

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

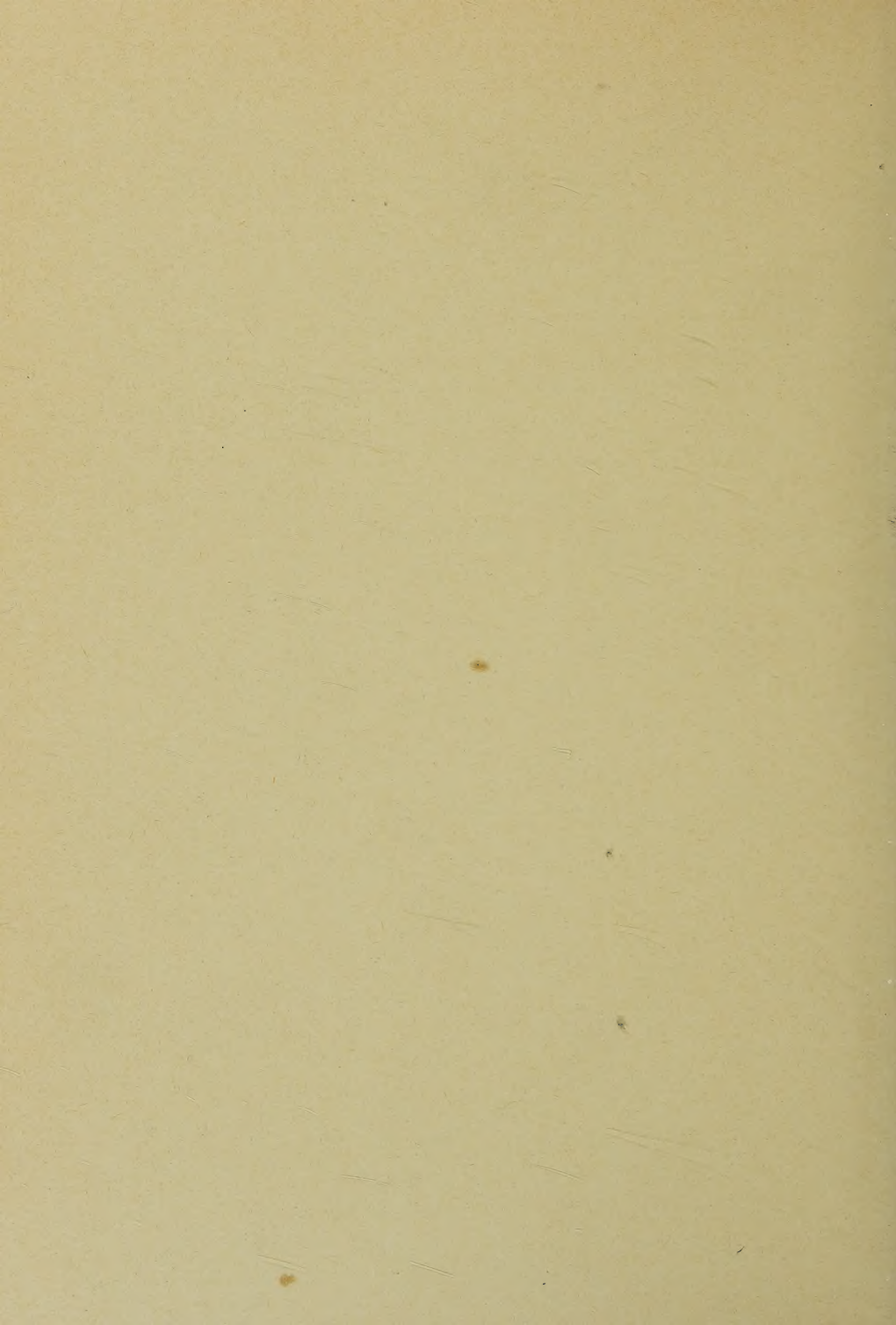
**Der Einfluß einer Übertragung
von praeimmunisierten Milzzellen
bei der Maus
auf die Entwicklung des spezifischen
immunologischen Gedächtnisses
syngenetischer Empfänger**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Rainer Helmut Köberer
aus Wuppertal

Mainz 1976



Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

DER EINFLUSS EINER ÜBERTRAGUNG VON PRAEIMMUNISIERTEN MILZZELLEN
BEI DER MAUS AUF DIE ENTWICKLUNG DES SPEZIFISCHEN IMMUNOLOGISCHEN
GEDÄCHTNISSES SYNGENETISCHER EMPFÄNGER

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde der Johannes-Gutenberg-
Universität Mainz den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Rainer Helmut Köberer

aus Wuppertal

Mainz 1976



Fachbereichsdekan: Prof. Dr. E. S t r a u b
1. Gutachter: Prof. Dr. E. M. L e m m e l
2. Gutachter: Prof. Dr. U. H a d d i n g



Das folgende Bild zeigt die für die Herstellung des Produkts
 benötigten Mengen an Rohstoffen und Hilfsstoffen, die in der
 folgenden Tabelle angegeben sind.

Materialbedarf

		Stück
1	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
2	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
3	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
4	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
5	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
6	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
7	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
8	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
9	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
10	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
11	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
12	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
13	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
14	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
15	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
16	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
17	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
18	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
19	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
20	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
21	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
22	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
23	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
24	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
25	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
26	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
27	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
28	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
29	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
30	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
31	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
32	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
33	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
34	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
35	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
36	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
37	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
38	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
39	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
40	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
41	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
42	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
43	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
44	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
45	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
46	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
47	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
48	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
49	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
50	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
51	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
52	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
53	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
54	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
55	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
56	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
57	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
58	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
59	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
60	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
61	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
62	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
63	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
64	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
65	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
66	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
67	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
68	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
69	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
70	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
71	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
72	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
73	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
74	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
75	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
76	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
77	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
78	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
79	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
80	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
81	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
82	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
83	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
84	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
85	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
86	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
87	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
88	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
89	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
90	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
91	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
92	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
93	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
94	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
95	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
96	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
97	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
98	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
99	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1
100	Einzelteil aus Blech 1,0 mm	1

Für meine Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555607_0069

DER EINFLUSS EINER OBERTRAGUNG VON PRAEIMMUNISIERTEN MILZZELLEN
BEI DER MAUS AUF DIE ENTWICKLUNG DES SPEZIFISCHEN IMMUNOLOGISCHEN
GEDÄCHTNISSES SYNGENETISCHER EMPFÄNGER

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Einleitung und Problemstellung	1
II Biologische Grundlagen der Immunantwort	3
a) B-Zell und T-Zell-System	3
b) Die zelluläre Differenzierung bei der Immunantwort	5
III Versuchsaufbau	9
a) Beeinflussung des immunologischen Gedächtnisses durch Übertragung von IgM-bildenden Zellen	9
b) Beeinflussung des immunologischen Gedächtnisses durch Übertragung von IgG-bildenden Zellen	10
IV Material und Methoden	11
a) Tiere	11
b) Immunisierung	11
c) Herstellung der Zellsuspension für den Zelltransfer	11
d) Vitalitätsbestimmung der Milzzellen	12
e) Plaquettechnik	12
V Ergebnisse	15
1. Vorversuche	15
a) Primärantwort	15
b) Sekundärantwort	17
c) Basiswerte (Background)	19
d) Beeinflussung der Basiswerte durch Übertragung von Milzzellen vorbehandelter Spendertiere	19

2.	Hauptversuche	22
A)	Die Beeinflussung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses von Empfängertieren gegen Schaferythrozyten durch Übertragung von Primärmaterial (PM)	22
a)	Vorbemerkung	22
b)	Versuchsaufbau und Verlauf	24
c)	Ergebnisse und Bewertung	24
B)	Die Beeinflussung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses von Empfängertieren gegen Schaferythrozyten durch Übertragung von Sekundärmaterial (SM)	27
a)	Vorbemerkung	27
b)	Versuchsaufbau und Verlauf	29
c)	Ergebnisse und Bewertung	29
VI	Diskussion	32
VII	Zusammenfassung	44
VIII	Literaturverzeichnis	45
IX	Tabellarischer Anhang	56 - 60

Im Text verwendete Abkürzungen

A	-	Hauptversuch A
Ag	-	Antigen
Ak	-	Antikörper
B	-	Hauptversuch B
IgG	-	Immunglobulin G - 7 s
IgM	-	Immunglobulin M - 19 s
KA	-	Kontrollversuch zum Hauptversuch A - Kein Transfer von Milzzellen
KB	-	Kontrollversuch zum Hauptversuch B - Kein Transfer von Milzzellen
KEoA	-	Kontrollversuch E Null zum Hauptversuch A - Transfer von Milzzellen nicht vorbehandelter Spendertiere
KEoB	-	Kontrollversuch E Null zum Hauptversuch B - Transfer von Milzzellen nicht vorbehandelter Spendertiere
PFC	-	Plaque Forming Cell - plaquebildende Zelle
PM	-	Primärmaterial - Zellsuspension, hergestellt aus Milzen von Mäusen 3 Tage nach primärem Antigenkontakt.
SM	-	Sekundärmaterial - Zellsuspension, hergestellt aus Milzen von Mäusen 3 Tage nach sekundärem Antigenkontakt
SRBC	-	Sheep Red Blood Cells - Schaferythrozyten
TF	-	Transfer von Milzzellen

DER EINFLUSS EINER ÜBERTRAGUNG VON PRAEIMMUNISIERTEN MILZZELLEN BEI DER MAUS AUF DIE ENTWICKLUNG DES SPEZIFISCHEN IMMUNOLOGISCHEN GEDÄCHTNISSES SYNGENETISCHER EMPFANGER

I Einleitung und Problemstellung

Die Erforschung der biologischen Grundlagen der Immunreaktion hat in den letzten Jahren bedeutende Fortschritte gemacht. Erkenntnisse über die Funktionsweise dieses bei Säugetieren hochentwickelten Systems haben u.a. Bluttransfusionen und Organtransplantationen ermöglicht. Es gehört weiterhin zu den frühesten Erkenntnissen der Immunitätsforschung, daß der Abwehr von Krankheitserregern Reaktionen des Immunsystems zugrunde liegen. Defekte des immunologischen Apparates treten als Anfälligkeit für bestimmte Infektionskrankheiten in Erscheinung. Im Prinzip beruht die immunologische Reaktion auf der Bereitstellung von Abwehrpotential, das die Fähigkeit zur spezifischen Erkennung bzw. Neutralisierung des in den Organismus eingedrungenen fremden Antigens besitzt.

Verschiedene Untersucher (72, 76) haben in den letzten Jahren nachgewiesen, daß die Ausbildung einer Immunantwort sowohl in vitro als auch in vivo durch Zufuhr spezifischer Antikörper gehemmt werden kann. Praktische Folgerungen aus dieser Erkenntnis und klinische Verwendungsmöglichkeit seien am Beispiel der Rhesusprophylaxe dargestellt:

Die RH-positiven Erythrozyten eines Föten stellen gegenüber dem rh-negativen Erythrozytenmerkmal seiner Mutter für diese ein Antigen dar. Gelangt nun dieses RH-positive Blut des Kindes - beispielsweise bei der Geburt - in den rh-negativen Blutkreislauf der Mutter, so wird diese sensibilisiert, d.h. sie beginnt, spezifisch gegen das RH-positive Blut ihres Kindes gerichtete Antikörper zu produzieren. Da die mütterlichen anti-RH-Antikörper die Plazentaschranke überwinden können, ist jede folgende Schwangerschaft mit gleicher Rhesusfaktor-Konstellation gefährdet: Eine Resensibilisierung der Mutter kann zum Morbus haemolyticus neonatorum unterschiedlichen Schweregrades führen.

Führt man jedoch nach der ersten Geburt eines RH-positiven Kindes seiner rh-negativen Mutter anti-RH-Antikörper zu, so wird eine mögliche Resensibilisierung und damit die Produktion von eigenen anti-RH-Antikörpern verhindert. Spätere Schwangerschaften mit gleicher Rhesusfaktor-Konstellation sind daher nicht im gleichen Maße gefährdet.

Diese Möglichkeit der Prophylaxe des Morbus haemolyticus neonatorum wurde 1964 erstmals beschrieben (25, 26). Der Mechanismus, der dieser Hemmung zugrunde liegt, ist im einzelnen noch nicht aufgeklärt, diskutiert wird u. a. die rasche Zerstörung des fötalen Erythrozyten-Antigens durch anti-RH-Antikörper, noch bevor dieses eine Sensibilisierung auslösen kann. Die Rhesusprophylaxe hat jedoch trotz der bisher unbefriedigenden Deutungen für das Zustandekommen der Hemmung eine große klinische Bedeutung erlangt.

Untersuchungen über die Hemmung der Immunantwort durch Zufuhr spezifischer Antikörper sowohl in vitro als auch in vivo mit verschiedenen Tierarten und mannigfachen Antigenspezifitäten sind in letzter Zeit auch von anderen Autoren beschrieben worden (8, 18, 24, 33, 36, 37, 64, 78). Dabei wird, unabhängig von dem bisher nicht ausreichend geklärten Mechanismus, die durch Antikörper erreichbare spezifische Hemmung der Immunantwort übereinstimmend als Ausdruck einer negativen Rückkopplung des Immunsystems angesehen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß einer Übertragung von spezifisch vorimmunisierten Milzzellen auf die Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses syngenetischer Empfänger im Tierexperiment untersucht.

Im einzelnen wurde versucht zu klären, ob a) die übertragenen vorimmunisierten Milzzellen in der Lage sind, im Empfänger weiterhin Antikörper zu bilden, b) diese in vivo gebildeten Antikörper ferner eine Hemmung der Ausbildung eines spezifischen immunologischen Gedächtnisses hervorrufen, die einer Hemmung durch Transfer von spezifischen Antikörpern entspricht, und c) sollte schließlich die unterschiedliche Wirkung von IgM- und IgG-produzierenden Zellen auf die Immunantwort dargestellt werden.

II Biologische Grundlagen der Immunantwort

a) B-Zell- und T-Zell-System

Der Warmblüter besitzt zwei nebeneinander bestehende und weitgehend voneinander unabhängige Systeme der spezifischen Immunreaktion, den zellulären und den humoralen Apparat. Reaktionsträger sowohl des humoralen als auch des zellulären Systems sind die Lymphozyten des peripheren Blutes und der lymphatischen Organe. Sie entwickeln sich aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle, einer undifferenzierten, pluripotenten Stammzelle, die sich beispielsweise in der fötalen Leber und im Knochenmark findet.

Aus diesen Zellen entsteht im Verlauf der ontogenetischen Entwicklung unter dem Einfluß des Thymus das zelluläre Immunsystem (T-System), während unter dem Einfluß der Bursa Fabricii beim Vogel bzw. deren funktionellem Äquivalent beim Säugetier das humorale System (B-System) entsteht.

Das zelluläre Teilsystem steuert immunologische Vorgänge wie z.B. Reaktionen vom "verzögerten Typ" (Tuberkulinreaktion), Abstoßung von Gewebstransplantaten und graft-versus-host-Reaktionen, es ist darüber hinaus bei der Abwehr von Tumoren und bakteriellen und viralen Infekten beteiligt.

Das humorale Teilsystem steuert die Bildung der in der Gammaglobulinfraktion des Blutserums befindlichen und dort nachweisbaren Antikörper der verschiedenen Klassen, die bei Reaktionen vom "Soforttyp" (Arthus-Reaktion, anaphylaktischer Schock) klinisch-pathologische Bedeutung haben können.

Welches der beiden Systeme bei der Immunantwort vorwiegend angeregt wird, bestimmt weitgehend die Eigenschaft des Antigens. Bei einigen Antigenkonfigurationen kommt es zur gemeinsamen Abwehrreaktion beider Systeme (18, 37).

ZWEITEILUNG DES IMMUNSYSTEMS

ZWEITEILUNG DES IMMUNSYSTEMS

INKOMPETENZ (Stammzellen)	durch Induktion →	KOMPETENZ	
Knochenmark, foetale Leber	Lymph. Organe I. Ordnung	Lymph. Organe II. Ordnung	Funktion
	Thymus Bursa Fabricii (Äquivalent) Granulozyten Megakaryozyten Makrophagen	Milz z.B. Lymphkn.	<u>T-System</u> "zelluläre" Immunität a) Transpl. Abst. b) verz. Reaktion c) antibakt. und antivirale Abwehr d) g-v-h Reaktion <u>B-System</u> "humorale" Immunität Immunglobuline Ig M Ig G Ig A (?) Ig E (?)

Abb. 1:

Schematische Darstellung der funktionellen Zweiteilung des Immunsystems. - Immunologisch inkompetente Stammzellen erlangen unter dem Einfluß von Thymus oder Bursa Fabricii (bzw. deren Äquivalent) die Fähigkeit zur spezifischen Antigenerkennung. Sie bilden nun als spezifisch antigen-reagible Zellen des T- oder des B-Systems einen Teil der lymphoiden Zellen des lymphatischen Apparates sowie der peripheren Zirkulation. Sie sind nach Antigenbegegnung in der Lage, mit einer spezifischen Reaktion die Immunantwort zu tragen.

In Anlehnung an Lemmel, Botzenhardt (41).

b) Die zelluläre Differenzierung bei der Immunantwort

Der zeitliche Ablauf der Immunreaktion nach Kontakt eines Organismus mit Antigen wurde von Sterzl (73) und Sercaracz (68) für das B-System im sog. X-Y-Z-Schema dargestellt. Abb. 2 zeigt dieses Schema; in ihm sind die immunkompetenten Zellen des noch nicht mit Antigen in Berührung gekommenen Organismus als X-Zellen aufgeführt. Begegnen diese Zellen erstmals "ihrem" Antigen, so werden sie zu Proliferation und Differenzierung angeregt. Dies geschieht auf zwei verschiedenen Wegen:

Bei einem starken Antigenreiz (hohe Konzentration) werden sie durch funktionelle Transformation auf direktem Wege in sog. Z-Zellen verwandelt. Erst nach diesem Schritt sind die Zellen zur eigentlichen immunologischen Leistung imstande, zur Bildung von Antikörpern der IgM-Klasse.

Ein schwacher Antigenreiz (geringe Konzentration) führt über mehrere Teilungsschritte zu einer Proliferation der X-Zellen; diese werden nunmehr als Y-Zellen bezeichnet und verkörpern das sog. immunologische Gedächtnis. Nach einer weiteren Begegnung mit dem gleichen Antigen verwandeln sie sich direkt in Z-Zellen, oder aber sie erzeugen neue Zellgenerationen, die sich nach Ausreifung in funktionsfähige Z-Zellen umwandeln. Die auf diese Weise gebildeten Z-Zellen produzieren Antikörper der IgG-Klasse.

Mit geeigneten Methoden (z. B. Plaque-Test) können die beschriebenen Zellen als IgM- oder IgG-bildende Zellen nachgewiesen werden.

In den ersten Tagen nach primärem Antigenkontakt lassen sich fast ausschließlich IgM-produzierende Plasmazellen nachweisen.

Kommt der Organismus nun nochmals mit dem gleichen Antigen in Berührung, oder wird das Antigen aus dem ersten Kontakt nicht restlos eliminiert, so ergibt sich zwangsläufig eine Begegnung mit den inzwischen gebildeten Y-Zellen, den Trägern des immunologischen Gedächtnisses, die dann wie vorstehend beschrieben reagieren. In der Frühphase einer Immunantwort überwiegt somit stark der Anteil der IgM-bildenden Plasmazellen, in der Spätphase sowie im gesamten Ablauf einer Sekundärantwort überwiegt der Anteil der IgG-bildenden Plasmazellen.

In Abb. 3 ist der Anstieg der IgG-Antikörper-Titer mit einem zeitlich parallel verlaufenden Rückgang des Anteils der IgM-Antikörper-Titer dargestellt. Fast schlagartig wird der steile Anstieg der IgM-Kurve unterbrochen, sobald IgG-Antikörper auftreten. Dieses auffällige Phänomen wird von verschiedenen Autoren als negativer Rückkopplungsmechanismus ausgelegt (47, 49, 67, 76). Die Möglichkeit, daß dieser Rückkopplungsmechanismus und die bereits erwähnte Hemmung der Immunantwort durch Zuführung spezifischer Antikörper eine gemeinsame Basis haben, kann nicht ausgeschlossen werden.

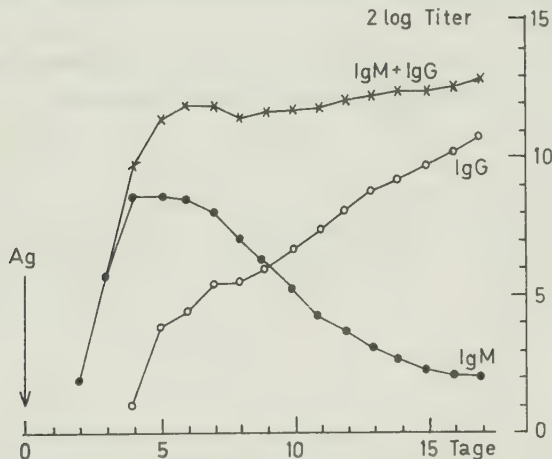


Abb 3 : IgM- und IgG-Bildung nach einem primären Antigenreiz
x - x ist die Summationskurve von IgM und IgG

(In Anlehnung an "Einführung in die Immunologie",
Herausgeber: Prof. Dr. Henning Brandis, Fischer UTB, S. 20)

In letzter Zeit sind diesbezügliche Untersuchungen über die Immunsuppression durch passive Zufuhr spezifischer Antikörper sowohl in vitro als auch in vivo mit unterschiedlichen Tierspezies und Antigenarten von mehreren Autoren durchgeführt worden (8, 18, 24, 33, 36, 37, 64, 77).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß einer Übertragung von spezifisch vorimmunisierten Milzzellen auf die Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses bei der Maus untersucht. Es sei hier nochmals deutlich zum Ausdruck gebracht, daß im Gegensatz zu den o.a. Untersuchungen anderer Autoren keine Antikörper, sondern Milzzellen vorbehandelter Spendertiere übertragen wurden. Im einzelnen sollte dabei folgenden Fragen nachgegangen werden:

1. Sind die übertragenen praeimmunisierten Milzzellen in der Lage, im Empfängertier weiterhin Antikörper zu bilden?
2. Bewirken diese in vivo gebildeten Antikörper eine Hemmung der Ausbildung eines spezifischen immunologischen Gedächtnisses, die einer Hemmung durch Transfer von spezifischen Antikörpern entspricht?
3. Besteht ein unterschiedlicher Einfluß von IgM- und IgG-produzierenden Zellen auf die sekundäre Immunantwort?

III Versuchsaufbau

Bei den nachstehend beschriebenen Versuchen wurde der Einfluß eines Transfers vorwiegend IgM-produzierender Milzzellen mit demjenigen eines Transfers von vorwiegend IgG-produzierenden Milzzellen auf die Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses bei der Maus verglichen.

a) Beeinflussung des immunologischen Gedächtnisses durch Übertragung von IgM-bildenden Milzzellen.

Gruppen von syngenetischen (C57 BlxA) F_1 Mäusen wurden mit einer standardisierten Antigendosis von Schaferythrozyten (SRBC) sensibilisiert. Die Milzzellen dieser Tiere wurden auf syngenetische Empfängergruppen übertragen, und zwar zu einem Zeitpunkt, der einen besonders hohen Anteil an IgM-produzierenden Milzzellen im Spendermaterial erwarten ließ. Als Zeitpunkt wurde der 3. Tag nach Primärimmunisierung gewählt. Das übertragene Material wurde als Primärmaterial (PM) bezeichnet. Vier Tage nach dem Transfer wurden die Empfängertiere erstmals gegen SRBC sensibilisiert, nach weiteren zwanzig Tagen ein zweites Mal. Am 3. und 5. Tag nach der zweiten Antigengabe wurde die Zahl der Antikörper-produzierenden Milzzellen bestimmt. Nach den in Abschnitt V 1 a beschriebenen Befunden ist am 3. Tag nach zweiter Antigeninjektion die größte Anzahl von PFC zu erwarten. Zur Ermittlung des weiteren Verlaufs der Immunantwort wurde der 5. Tag nach der zweiten Antigeninjektion als zweiter Untersuchungstag gewählt.

b) Beeinflussung des immunologischen Gedächtnisses durch Übertragung von IgG-bildenden Milzzellen

Gruppen von syngenetischen (C57 BlxA) F_1 Mäusen wurden zweimal im Abstand von 20 Tagen mit einer standardisierten Antigendosis SRBC sensibilisiert. Die Milzzellen dieser Tiere wurden auf syngenetische Empfängergruppen übertragen, diesmal zu einem Zeitpunkt, der einen besonders hohen Anteil an IgG-produzierenden Zellen im Spendermaterial erwarten ließ. Als Zeitpunkt wurde der 3. Tag nach zweiter Antigengabe gewählt. Das übertragene Material wurde als Sekundärmaterial (SM) bezeichnet. Vier Tage nach dem Transfer wurden die Empfängertiere erstmals gegen SRBC sensibilisiert, nach weiteren zwanzig Tagen ein zweites Mal. Am 3. und 5. Tag nach dieser zweiten SRBC-Injektion wurde die Zahl der Antikörper-produzierenden Milzzellen ermittelt. Nach den in Abschnitt V 1 b beschriebenen Resultaten ist am 3. Tag nach zweiter Antigengabe die größte Zahl von PFC zu erwarten. Zur Ermittlung des weiteren Verlaufs der Immunantwort wurde der 5. Tag nach dem zweiten Antigenkontakt als zweiter Untersuchungstag gewählt.

Aus der Gegenüberstellung der Ergebnisse in beiden Versuchsanordnungen sollte der unterschiedliche Hemmeffekt von IgM- bzw. IgG-bildenden Zellen auf die Immunleistung der Empfängertiere dargestellt werden.

IV Material und Methoden

a) Tiere

Bei allen Versuchen wurden ca. 8 - 10 Wochen alte (C57 B1xA) F₁ Mäuse der Firma Bomholtgardt, Ry, Dänemark, verwendet. Die Tiere wurden, nach Geschlecht getrennt, in Kunststoffkäfigen aus Macrolon[®] gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser und Futter (Altrumin[®]).

b) Immunisierung

Schaferythrozyten (SRBC) in Alseverlösung wurden von der Fa. BAG, Lich, bezogen und nicht länger als drei Wochen bei 4°C aufbewahrt. Jeweils vor den Injektionen wurden die Zellen zentrifugiert, dreimal in Ringerlösung gewaschen und mit einer mit Penicillin und Streptomycin versetzten Ringerlösung (10^6 I.E. Penicillin + 1 g Streptomycin pro 500 ml Ringerlösung) auf 10^9 SRBC pro ml eingestellt. Alle beschriebenen Injektionen mit SRBC erfolgten ausschließlich i.p.; das Injektionsvolumen betrug jeweils 0,5 ml; d. h. pro Tier und Injektion wurden 5×10^8 SRBC verabfolgt.

c) Herstellung der Zellsuspension für den Zelltransfer

Die Spendertiere wurden in üblicher Weise durch zervikale Dislokation getötet; ihre Milzen wurden steril entnommen und in Petrischalen unter Zusatz von Medium (s.u.) durch Zerzupfen zu einer Zellsuspension aufbereitet. Nach mehrmaligem Aufziehen des gezupften Gewebes in Injektionsspritzen mit Kanülen Nr. 20 zur restlosen Eliminierung von Milzstroma wurden die Zellen dreimal in Medium (s.u.) gewaschen und ihre Vitalität mit Hilfe von Trypanblau bestimmt. Danach wurde die gewünschte Konzentration lebender Zellen pro ml Medium eingestellt. Diese Suspension wurde den Empfänger-tieren in Dosen von jeweils 0,5 ml i.p. injiziert. Es wurde jeweils - sofern im Text keine anderslautenden Angaben gemacht werden - die etwa einem Milzäquivalent entsprechende Zahl von lebenden Milzzellen, d.h. 8×10^7 Zellen, übertragen.

Die Zahlen der IgG-PFC und IgM-PFC in den erhaltenen Zellsuspensionen wurden vor dem Transfer mit der nachstehend beschriebenen Methode bestimmt.

Medium: Bei der Herstellung der Zellsuspensionen für die Waschschritte und für die Injektionen des Transfermaterials wurde Minimum Essential Medium der Flow Laboratories verwendet, das bei den vorliegenden Untersuchungen mit folgenden Zusätzen angereichert wurde:

5 % Fetal Calf Serum (Flow Lab.)

1 % Sodium Pyruvat (Flow Lab.)

1 % L-Glutamin (Flow Lab.)

Der pH-Wert von 7,2 - 7,4 wurde durch Zufügen einer 7,5 %igen NaHCO_3 -Lösung (Flow Lab.) unter Zuhilfenahme eines geeigneten Meßgerätes eingestellt und ggfs. durch Einleiten von CO_2 -Gas korrigiert.

d) Vitalitätsbestimmung der Milzzellen

Mittels Trypanblaufärbung wurde die Vitalität der zu übertragenden oder auf PFC zu untersuchenden Milzzellen bestimmt. 0,05 ml der Zellsuspension wurden mit 0,35 ml Medium und 0,1 ml Trypanblau-Lösung versetzt, 3 - 5 min. inkubiert und anschließend wieder aufgeschüttelt. Zur Auszählung wurde die Zellsuspension sodann mit 1 %iger Essigsäure in Leukozytenpipetten aufgezogen und in eine Neubauer-Kammer eingefüllt. Gefärbte Zellen wurden als tote, ungefärbte als lebende Zellen betrachtet; ihre Zahl wurde in der üblichen Weise festgestellt.

e) Plaquettechnik

Die Milzen der durch zervikale Dislokation getöteten Tiere wurden steril entnommen und anschließend gesondert in Glas-Teflon-Homogenisatoren der Fa. Braun, Melsungen, unter Zusatz von 5 ml Medium vorsichtig zerkleinert. Die so erhaltenen Zellsuspensionen wurden zweimal in Medium gewaschen, zentrifugiert und mit Medium auf 2 ml aufgefüllt. Mittels Trypanblaufärbung wurden in der Neubauer-Kammer lebende und tote Zellen bestimmt (s.o.) und ihre Gesamtzahl pro Milz berechnet.

Zur Bestimmung der IgM-PFC gegen SRBC wurde die von Cunningham (11) angegebene Abwandlung der Technik von Jerne (38) benutzt. Hierbei wurden 0,2 ml der Milzzellsuspension mit 0,05 ml Meerschweinchen-serum, das zuvor an 10 Vol % SRBC adsorbiert wurde, als Komplementquelle und 0,2 ml SRBC-Aufschwemmung, eingestellt auf 10^9 Zellen pro ml, gemischt.

Diese Suspension wurde in eine aus zwei Objektträgern gebildete Kammer eingegeben: Zwei in Alkohol und Äther gereinigte und sorgfältig getrocknete Objektträger wurden hierzu mit beidseitig klebendem Tesaband Nr. 5338 an den Schmalseiten zusammengeklebt. In dem derart entstandenen kapillaren Spalt bildete die eingefüllte Suspension einen sog. Monolayer.

Milzzellen, die Antikörper gegen SRBC bilden, verursachen über die Antikörper-Complement-bedingte Lyse der umliegenden Erythrozyten die Entstehung von Lysehöfen, den sog. Plaques. Im Phasenkontrastmikroskop ist in der Mitte der Plaques eine lymphoide Zelle zu erkennen, die von den sog. ghosts, den Membranen der durch Reaktion von Antikörpern und Komplement lysierten Schaferythrozyten, umgeben ist. Die Zahl der Antikörper bildenden Milzzellen kann durch Auszählen der Lysehöfe exakt ermittelt werden.

Die Konzentration der Milzzellsuspension wurde durch Vorversuche auf etwa 100 zu erwartende Plaques pro Kammer eingestellt. Jeweils zwei Kammern pro Einzelzellsuspension wurden mittels Tuberkulinspritzen befüllt; das Volumen wurde registriert. Anschließend wurden die Kammern mit erhitztem Paraffin versiegelt und eine Stunde im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Danach wurden die PFC gezählt und unter Berücksichtigung von Kammervolumen sowie vorher bestimmter Zellkonzentration der eingefüllten Milzsuspension die Zahl der PFC pro Milz bzw. pro 10^6 Milzzellen errechnet.

Zur Bestimmung der IgG-PFC wurde die "indirekte" Methode von Dresser (15) herangezogen. Prinzipiell wurde in gleicher Weise verfahren wie beim vorstehend beschriebenen IgM-Plaquesansatz, jedoch wurde der Suspension von Milzzellen, Meerschweinchen serum und Schaferythrozyten noch

0,025 ml eines 1:10 verdünnten Kaninchen-anti-Mäuse-Gammaglobulins der Behringwerke Marburg zugesetzt. Da in diesem Plaqueansatz sowohl IgM- als auch IgG-Zellen Lysehöfe bildeten, war zur Bestimmung der Anzahl der IgG-PFC die Zahl der IgM-PFC von der Gesamtzahl der gebildeten Plaques abzuziehen. Vorversuche ergaben, daß das anti-Mäuse-Gammaglobulin die Zahl der IgM-PFC um 50 % verringerte ("Hemmeffekt"). Infolgedessen wurde bei der Errechnung der IgG-PFC nur 50 % der vorher bestimmten IgM-PFC von der Gesamtzahl der PFC abgezogen.

V Ergebnisse

1. Vorversuche

a) Primärantwort

Abb. 4 zeigt die Primärantwort von (C57 BlxA) F_1 Mäusen auf SRBC als Antigen. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milzzellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergebnissen von jeweils sechs Tieren dar. Alle Einzelwerte finden sich im tabellarischen Anhang.

Am Tage 0 erfolgte die Antigengabe durch i.p.-Injektion von SRBC. Die Zahl der IgM-PFC und IgG-PFC wurde in unterschiedlichen Versuchsgruppen am 3., 4., 5., 6., 8., bzw. 10. Tag nach der SRBC-Injektion bestimmt.

Die Kurve der IgM-PFC zeigt vom 3. bis zum 5. Tag einen stark ansteigenden Verlauf: am 3. Tag finden sich 120, am 4. Tag 910 und am 5. Tag 2800 PFC. Die Werte fallen anschließend wieder ab; am 6. Tag finden sich noch 1500, am 8. Tag noch 890 und am 10. Tag noch 790 IgM-PFC.

Die Kurve der IgG-PFC zeigt vom 3. bis zum 5. Tag ebenfalls einen stark ansteigenden Verlauf, jedoch finden sich am 3. und 4. Tag nur 14 bzw. 300 PFC, während am 5. Tag 3700 PFC gezählt werden und mit 3920 PFC am 6. Tag der Scheitelpunkt erreicht wird. Der 8. Tag zeigt einen Wert von 1000 PFC, der 10. Tag bringt einen erneuten Anstieg auf 3800 IgG-PFC.

Wie auch diesbezüglich Ergebnisse anderer Untersucher zeigen (34, 35) überwiegt bis knapp vor dem 5. Tag nach Antigengabe die Zahl der IgM-PFC, danach wird sie von derjenigen der IgG-PFC übertroffen. Das Verhältnis IgM-PFC zu IgG-PFC ändert sich anschließend insofern zu ungunsten der IgM-PFC, da ihre Anzahl stetig abnimmt, während dies bei der IgG-PFC nicht festzustellen ist. Aufgrund des Ergebnisses dieses Vorversuchs wird für die Obertragung von vorwiegend IgM-produzierenden Zellen Milzsuspension vom 3. Tag nach Primärimmunisierung verwendet.

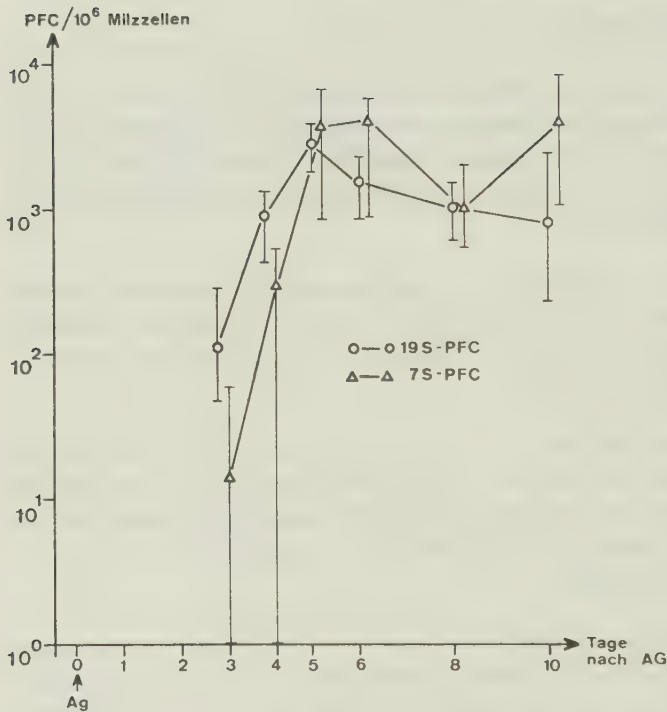


Abb. 4

IgM-PFC und IgG-PFC einer Primärantwort von (C57 BlxA) F₁ Mäusen auf SRBC als Antigen.

Antigengabe am Tage 0: $0,5 \times 10^9$ SRBC i.p.

Darstellung in Zeitabhängigkeit zur Antigeninjektion.

Die Kurven verbinden die an den Untersuchungstagen gefundenen arithmetischen Mittelwerte einer Gruppe von je sechs Tieren, deren individuelle Streubreite jeweils mit eingezeichnet ist.

b) Sekundärantwort

Abb. 5 zeigt die Sekundärantwort von (C57 BlxA) F_1 Mäusen auf SRBC als Antigen. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milzzellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergebnissen von jeweils sechs Tieren dar. Alle Einzelwerte finden sich im tabellarischen Anhang.

Am Tage -20 und am Tage 0 erfolgte die Antigengabe durch i.p.-Injektion von SRBC. Die Zahl der IgM-PFC und IgG-PFC wurde in unterschiedlichen Versuchsgruppen jeweils am 2., 3., 4., 5., 6., 8. bzw. 10. Tag nach der zweiten SRBC-Injektion bestimmt.

Die Kurve der IgM-PFC zeigt vom 2. bis zum 4. Tag einen ansteigenden Verlauf: am 2. Tag finden sich 50, am 3. Tag 84 und am 4. Tag 223 IgM-PFC, anschließend fallen die Werte wieder ab. Am 5. Tag finden sich 63, am 6. Tag 32, am 8. Tag 20 und am 10. Tag nur noch 10 IgM-PFC.

Vom 2. bis zum 4. Tag steigt die Zahl der IgG-PFC von 455 über 1312 auf 3055 an. Danach sinken die Werte wieder ab: am 5. Tag finden sich noch 1912, am 6. Tag 840, am 8. Tag 1147 und am 10. Tag noch 854 IgG-PFC.

Bereits nach zwei Tagen nach der zweiten Antigeninjektion können sowohl IgM-PFC als auch IgG-PFC nachgewiesen werden. Die jeweiligen Kurven verlaufen in etwa parallel, wobei die Kurve der IgG-PFC um rund eine Zehnerpotenz höher liegt als diejenige der IgM-PFC; beide Kurven erreichen ihren Scheitelpunkt am 4. Tag nach zweitem Antigenkontakt.

Das Verhältnis von IgM-PFC zu IgG-PFC zeigt von Anfang an ein deutliches Überwiegen der IgG-PFC. Ferner zeigt sich nach dem 4. Tag bis zum 10. Tag nach zweitem Antigenkontakt ein Rückgang der IgM-PFC, während ein solcher bei den IgG-PFC nicht zu verzeichnen ist.

Aufgrund des Ergebnisses dieses Vorversuchs wird für die Übertragung von vorwiegend IgG-produzierenden Zellen Milzsuspension vom 3. Tag nach Sekundärimmunisierung verwendet.

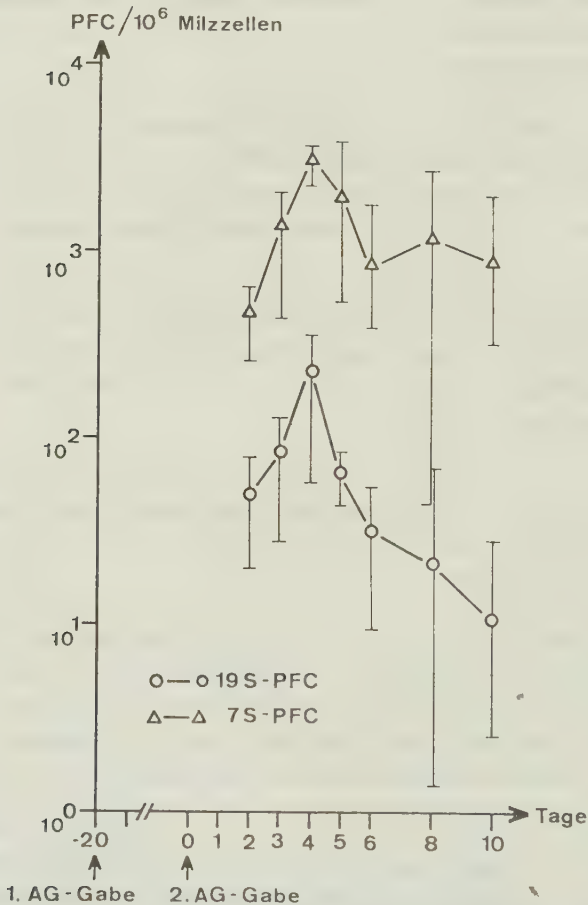


Abb. 5

IgM-PFC und IgG-PFC einer Sekundärantwort von (C57 BlxA) F_1 Mäusen auf SRBC als Antigen.

1. Antigengabe am Tage -20: $0,5 \times 10^9$ SRBC i.p.

2. Antigengabe am Tage 0: $0,5 \times 10^9$ SRBC i.p.

Darstellung in Zeitabhängigkeit zur Antigeninjektion.

Die Kurven verbinden die an den Untersuchungstagen gefundenen arithmetischen Mittelwerte einer Gruppe von je sechs Tieren, deren individuelle Streubreite jeweils mit eingezeichnet ist.

c) Basiswerte (Background)

Zur Vermeidung von Fehlinterpretationen war im Rahmen der Vorversuche auszutesten, ob der verwendete Mäusestamm auch ohne vorhergehenden Antigenkontakt spontan Plaques gegen SRBC bildete. Zu diesem Zweck wurde eine Gruppe von sechs nicht vorbehandelten (C57 BlxA) F_1 Mäusen durch zervikale Dislokation getötet und ihre Milzen auf IgM- und IgG-PFC untersucht.

Zwei Tiere der Gruppe produzierten weder IgM- noch IgG. Die restlichen vier Tiere bildeten ebenfalls keine IgG-PFC, jedoch fanden sich bei ihnen einige IgM-PFC, die einen arithmetischen Mittelwert von 2 IgM-PFC pro 10^6 Milzzellen für die gesamte Gruppe ergaben. Der ermittelte Wert wurde als Basiswert (Background) bezeichnet.

d) Beeinflussung der Basiswerte durch Übertragung von Milzzellen vorbehandelter Spendertiere

Die Milzzellen einer Gruppe von (C57 BlxA) F_1 Mäusen wurden 3 Tage nach i.p.-Injektion von SRBC auf 5 Gruppen von jeweils sechs syn genetischen Mäusen übertragen. Am 1., 2., 4., 7. und 10. Tag nach dem Transfer wurden die Milzen der Empfängertiere auf IgM- und IgG-PFC getestet, ohne den Empfängertieren vorher SRBC als Antigen zu injizieren.

Abb. 6 zeigt die Zahl der an den jeweiligen Untersuchungstagen gefundenen Plaques. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milzzellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergebnissen von jeweils sechs Tieren dar.

Die Kurve der IgM-PFC zeigt vom 1. bis zum 7. Tag einen ansteigenden Verlauf; am 1. Tag finden sich 1, am 2. Tag 2,5, am 4. Tag 4 und am 7. Tag 14 IgM-PFC. Am 10. Tag fällt der Wert der IgM-PFC auf 1 ab.

IgG-PFC treten erst ab 4. Tag regelmäßig auf. Ihre Zahl beträgt durchschnittlich 1 IgG-PFC pro 10^6 Milzzellen bis zum letzten Untersuchungstag.

Ein Vergleich der Werte der beiden Abschnitte c) und d) ergibt, daß ab 4. Tag nach Übertragung von Milzzellen vorbehandelter Spendertiere IgM- und IgG-PFC zu finden sind, deren Anzahl die Streubreite der Basiswerte übersteigt. Auffällig ist außerdem, daß IgG-PFC auftreten, obwohl die Empfänger nicht direkt mit Antigen in Kontakt gebracht wurden. Obwohl nicht völlig auszuschließen ist, daß beim Zelltransfer Antigen mitübertragen wird und deshalb die minimalen PFC der Antwort auf minimale Immunisierung entsprechen könnten, so ist dies doch unwahrscheinlich, da ja nach der eigentlichen Immunisierung die Empfängertiere nicht mit einer Sekundärantwort reagieren, sondern mit einer Hemmung. Es ist zu vermuten, daß sich nicht eine IgM-Antwort der Empfängertiere gegenüber mitübertragenem Antigen zu einer IgG-Antwort entwickelt hat, sondern daß hier die Spenderzellen in Erscheinung treten. Dies scheint darauf hinzudeuten, daß die übertragenen Milzzellen in der Lage sind, im Empfänger weiterhin Antikörper zu bilden und von IgM auf IgG-Produktion "umzuschalten".

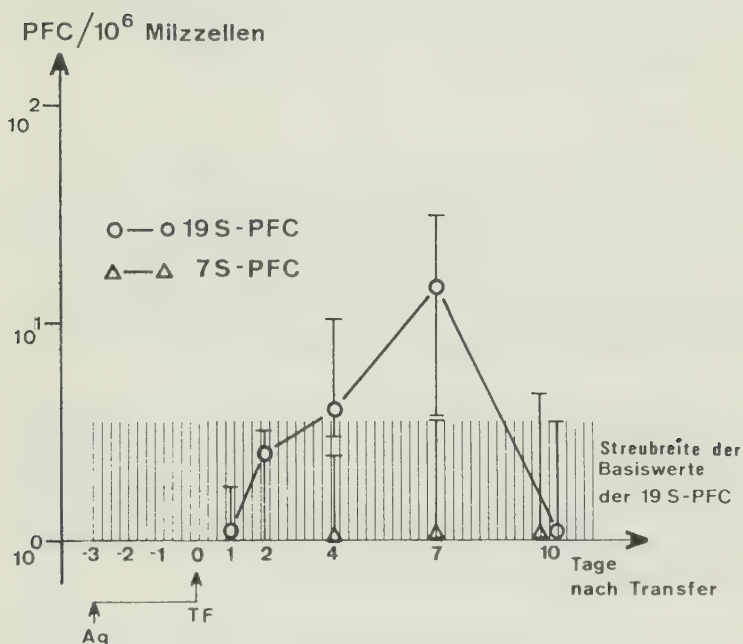


Abb. 6

IgM-PFC und IgG-PFC bei nicht vorbehandelten (C57 BlxA) F₁ Mäusen in Zeitabhängigkeit vom Transfer von 8×10^7 i.p. injizierter Milzzellen vorbehandelter syngenetischer Tiere.

Die Spendertiere erhielten 3 Tage vor dem Transfer eine Antigengabe von $0,5 \times 10^9$ SRBC i.p.

Das schraffierte Feld stellt die Streubreite der Basiswerte der IgM-PFC von nicht vorbehandelten Tieren dar (entsprechend der in Abschnitt c beschriebenen Gruppe).

2. Hauptversuch

- A) Die Beeinflussung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses von Empfängertieren gegen Schaferythrozyten durch Übertragung von Primärmaterial (PM)

a) Vorbemerkung

Aus Abb. 7 geht der zeitliche Aufbau des Hauptversuchs A samt der zugehörigen parallel verlaufenden Kontrollversuche KEoA und KA hervor. Im Hauptversuch A wurde untersucht, welchen Einfluß ein Transfer primär sensibilisierter, vorwiegend IgM-bildender Milzzellen auf das spezifische immunologische Gedächtnis von (C57 BlxA) F₁ Mäusen gegenüber dem gleichen Antigen (SRBC) ausübt.

Die beiden Kontrollversuche KEoA und KA hatten prinzipiell den gleichen Aufbau wie der Hauptversuch A, jedoch erhielten die Tiere der Gruppe KEoA beim Transfer Milzzellen nicht vorbehandelter Spender-tiere. Zweck dieses Kontrollversuchs war es, einen eventuellen Einfluß auf das immunologische Gedächtnis lediglich durch Übertragung von syngenetischen Milzzellen darzustellen.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe KA fand kein Milzzelltransfer statt. Nach dem Versuchsaufbau war lediglich eine normale, unbeeinflusste Sekundärantwort zu erwarten.

In allen Versuchen wurden drei bzw. fünf Tage nach der letzten Antigeninjektion die Milzen von jeweils sechs Tieren auf IgM- und IgG-PFC untersucht.

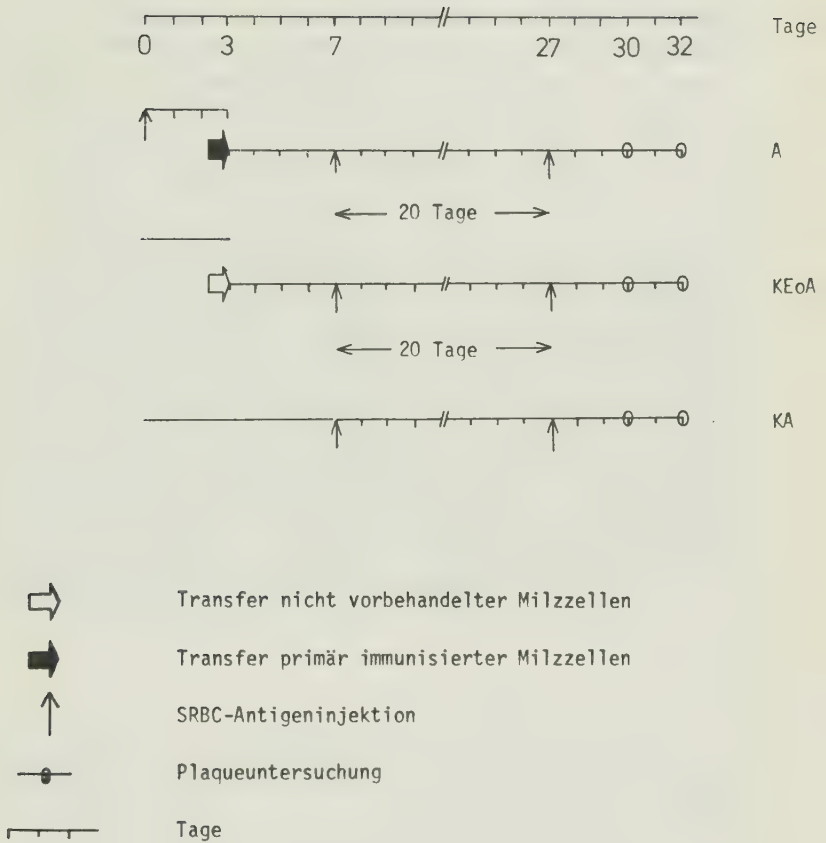


Abb. 7

Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Untersuchung des Einflusses einer Übertragung von Primärmaterial auf die Immunreaktion von (C57 BlxA) F₁ Mäusen.

Einzelheiten sind dem Text zu entnehmen.

b) Versuchsaufbau und Verlauf

Tabelle 1 zeigt den Einfluß des Transfers vorwiegend IgM-produzierender Milzzellen von gegen SRBC primär sensibilisierten Spender-tieren auf das spezifische immunologische Gedächtnis von syngene-tischen (C57 BlxA) F_1 Mäusen. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milz-zellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergeb-nissen von jeweils sechs Tieren dar. Alle Einzelwerte sowie die statistische Berechnung finden sich im tabellarischen Anhang.

Am Tage 0 wurde eine Gruppe von (C57 BlxA) F_1 Mäusen durch i.p.-Injektion von SRBC sensibilisiert. Drei Tage später wurden die Milzen dieser Tiere steril entnommen, zu einer Suspension aufbe-reitet und in einer Konzentration von 8×10^7 Zellen auf jedes der Empfängertiere, wiederum durch i.p.-Injektion übertragen. Zum Zeit-punkt dieses Transfers bildeten $1,3 \times 10^4$ Zellen IgM und $1,4 \times 10^3$ Zellen IgG. Vier Tage nach dem Transfer wurden die Empfänger erst-mals mit SRBC sensibilisiert, nach weiteren 20 Tagen nochmals mit dem gleichen Antigen in Kontakt gebracht. Drei bzw. fünf Tage nach der zweiten Antigeninjektion wurden die Tiere durch zervikale Dis-lokation getötet und ihre Milzen auf IgM- und IgG-bildende Zellen untersucht.

c) Ergebnisse und Bewertung

Bei den Tieren des Hauptversuchs A wurden am 3. Tag nach zweiter Anti-gengabe 105 und am 5. Tag nach zweiter Antigengabe 95 IgM-PFC bzw. 989 und 301 IgG-PFC ermittelt.

Die Werte der Kontrollgruppe KA liegen am 3. Tag bei 84 und am 5. Tag bei 63 IgM-PFC bzw. bei 1312 und 1912 IgG-PFC.

Gleichzeitig mit dem Milzzelltransfer beim Hauptversuch A erfolg-te eine Übertragung von 8×10^6 Milzzellen auf die Tiere der Kontrolle KEoA. Die Spendertiere wurden - im Gegensatz zu denjenigen des Haupt-versuchs A - nicht sensibilisiert. Die übertragene Zellsuspension enthielt, wie im Abschnitt V 1 c angegeben, rund 2 IgM-PFC pro 10^6 Milz-zellen und keine IgG-PFC. Vier Tage nach dem Transfer wurden die Tiere erstmals mit SRBC sensibilisiert und nach

20 Tagen nochmals mit der gleichen Dosis Antigen in Kontakt gebracht. Drei bzw. fünf Tage nach dieser zweiten Antigeninjektion wurden die Milzen der Tiere entnommen und auf IgM- und IgG-PFC untersucht.

Die Werte der Gruppen liegen am 3. Tag bei 174 und am 5. Tag bei 139 IgM-PFC bzw. bei 1391 und 1183 IgG-PFC.

Ein Vergleich der in Tabelle 1 (S. 26) dargestellten Werte der einzelnen Versuchsgruppen ergab bei statistischer Auswertung (vgl. tabellarischer Anhang) am 3. und am 5. Untersuchungstag keine signifikanten oder auffälligen Unterschiede zwischen den Gruppen in bezug auf die IgM-PFC. Bei den IgG-PFC trat am 3. Tag ebenfalls noch kein Unterschied auf, am 5. Tag jedoch war eine auffällige Differenz nachweisbar. Dies scheint darauf hinzudeuten, daß ein Transfer von vorwiegend IgM-bildenden Milzzellen die Entwicklung der IgG-Antikörper in der späteren Phase dieser Immunantwort beeinflussen kann. Da jedoch das Transfermaterial rund 10 % IgG-bildende Zellen enthielt, kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß die IgG-Zellen die Hemmung verursachen.

Tabelle 1

	IgM/10 ⁶		IgG/10 ⁶	
	3. Tag	5. Tag	3. Tag	5. Tag
A	105	95	989	301
KA	84	63	1312	1912
KEoA	174	139	1391	1183

Tabelle 1

Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses der Empfängertiere auf SRBC als Antigen

Versuch A: Die Tiere erhielten 8×10^7 Milzzellen i.p. von syngenetischen primär sensibilisierten Spendern.

Versuch KA: Kontrollgruppe ohne Milzzelltransfer

Vers. KEoA: Kontrollversuch, bei dem die Tiere 8×10^7 Milzzellen i.p. von syngenetischen, jedoch nicht vorbehandelten Spendern erhielten.

Zeitlicher Verlauf der Versuche, Transfer, Antigenkonzentrationen etc. im Text und Abbildungen. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milzzellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergebnissen von jeweils sechs Mäusen dar. Alle Einzelwerte finden sich im tabellarischen Anhang.

B) Die Beeinflussung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses von Empfängertieren gegen Schaferythrozyten durch Übertragung von Sekundärmaterial (SM)

a) Vorbemerkung

Aus Abb. 8 geht der zeitliche Aufbau des Hauptversuchs B samt der zugehörigen parallel verlaufenden Kontrollversuche KEoB und KB hervor. Im Hauptversuch B wurde untersucht, welchen Einfluß ein Transfer sekundär sensibilisierter, vorwiegend IgG-bildender Milzzellen auf das spezifische immunologische Gedächtnis von (C57 BlxA) F₁ Mäusen gegenüber dem gleichen Antigen (SRBC) ausübt.

Die beiden Kontrollversuche KEoB und KB hatten prinzipiell den gleichen Aufbau wie der Hauptversuch B, jedoch erhielten die Tiere der Gruppe KEoB beim Transfer Milzzellen nicht vorbehandelter Spender-tiere. Zweck dieses Versuchs war es, einen eventuellen Einfluß auf das immunologische Gedächtnis lediglich durch Übertragung von syn-genetischen Milzzellen darzustellen.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe KB fand kein Milzzelltransfer statt. Nach dem Versuchsaufbau war eine normale Sekundärantwort zu erwarten.

In allen Versuchen wurden drei bzw. fünf Tage nach der letzten Antigeninjektion die Milzen von jeweils sechs Tieren auf IgM- und IgG-PFC untersucht.

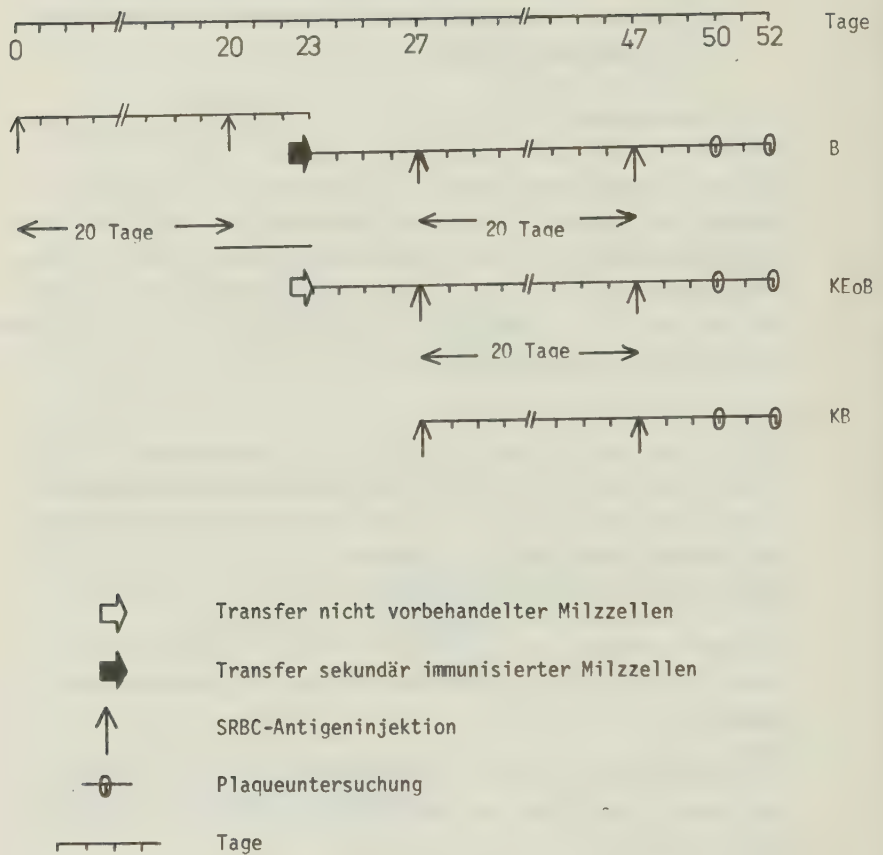


Abb. 8

Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Untersuchung des Einflusses einer Übertragung von Sekundärmaterial auf die Immunreaktion von (C57 BlxA) F_1 Mäusen.

Einzelheiten sind dem Text zu entnehmen.

b) Versuchsaufbau und Verlauf

Tabelle 2 zeigt den Einfluß des Transfers vorwiegend IgG-produzierender Milzzellen von gegen SRBC sekundär sensibilisierten Spendertieren auf das spezifische immunologische Gedächtnis von syngenetischen (C57 BlxA) F_1 Mäusen. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milzzellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergebnissen von jeweils sechs Tieren dar. Alle Einzelwerte sowie die statistische Berechnung finden sich im tabellarischen Anhang.

Am Tage 0 wurde eine Gruppe von (C57 BlxA) F_1 Mäusen durch i.p.-Injektion von SRBC sensibilisiert. Am Tage 20 erfolgte der zweite Antigenkontakt, ebenfalls durch i.p.-Injektion von SRBC. Drei Tage später wurden die Milzen dieser Tiere steril entnommen, zu einer Zellsuspension aufbereitet und in einer Konzentration von 8×10^7 Zellen auf jedes der Empfängertiere, wiederum durch i.p.-Injektion, übertragen. Zum Zeitpunkt des Transfers bildeten $6,7 \times 10^3$ Zellen IgM und 10^5 Zellen IgG. Vier Tage nach dem Transfer wurden die Empfänger erstmals mit SRBC sensibilisiert, nach weiteren 20 Tagen nochmals mit dem gleichen Antigen in Kontakt gebracht. Drei bzw. fünf Tage nach dieser zweiten Antigeninjektion wurden die Tiere durch zervikale Dislokation getötet und ihre Milzen auf IgM- und IgG-bildende Zellen untersucht.

c) Ergebnisse und Bewertung

Bei den Tieren der Gruppe B wurden am 3. Tag nach zweiter Antigengabe 3 und am 5. Tag nach zweiter Antigengabe 44 IgM-PFC bzw. 5 und 122 IgG-PFC ermittelt.

Die Werte der Kontrollgruppe KB liegen am 3. Tag bei 94 und am 5. Tag bei 721 IgM-PFC bzw. bei 713 und 16250 IgG-PFC. Gleichzeitig mit dem Milzzelltransfer bei der Gruppe B erfolgte eine Übertragung von 8×10^6 Milzzellen bei der Gruppe KEoB. Die Spendertiere dieser Versuchsreihe waren im Gegensatz zu denjenigen des Hauptversuchs B nicht sensibilisiert. Die übertragene Zellsuspension enthielt, wie in Abschnitt V 1 c angegeben, rund 2 IgM-PFC pro 10^6 Milzzellen und keine IgG-PFC. Vier Tage nach dem Transfer wurden die Tiere erstmals mit SRBC sensibilisiert, und nach 20 Tagen nochmals mit der gleichen Antigencharge

reimmunisiert. Drei bzw. fünf Tage nach dieser zweiten Antigeninjektion wurden die Milzen der Tiere auf IgM- und IgG-PFC untersucht.

Die Werte der Gruppen liegen am 3. Tag bei 58 und am 5. Tag bei 518 IgM-PFC bzw. bei 611 und 12892 IgG-PFC.

Ein Vergleich der in Tabelle 2 (S. 31) dargestellten Werte der einzelnen Versuchsgruppen ergab bei statistischer Auswertung (s. tabellarischer Anhang) sowohl am 3. als auch am 5. Untersuchungstag bei IgM- und IgG-bildenden Zellen einen statistisch auffälligen Unterschied zwischen den Tieren des Hauptversuchs und den Tieren beider Kontrollgruppen. Ein solcher Unterschied war zwischen den Tieren der Kontrollgruppen untereinander nicht festzustellen.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß ein Transfer von vorwiegend IgG-bildenden Milzzellen die Entwicklung eines immunologischen Gedächtnisses in statistisch auffälliger Weise hemmen kann, wie aus der im Vergleich zu den Kontrollgruppen deutlich erniedrigten Zahl IgM- und IgG-bildender Zellen nach Sekundärimmunisierung zu ersehen ist.

Tabelle 2

	IgM/10 ⁶		IgG/10 ⁶	
	3. Tag	5. Tag	3. Tag	5. Tag
B	3	44	5	122
KB	94	721	713	16250
KEoB	58	518	611	12892

Tabelle 2

Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses der Empfängertiere auf SRBC als Antigen

Versuch B: Die Tiere erhielten 8×10^7 Milzzellen i. p. von syngenetischen sekundär im Abstand von 20 Tagen sensibilisierten Spendern.

Versuch KB: Kontrollgruppen ohne Milzzelltransfer

Versuch KEoB: Kontrollversuch, bei dem die Tiere 8×10^7 Milzzellen i. p. von syngenetischen, jedoch nicht vorbehandelten Spendern erhielten.

Zeitlicher Verlauf der Versuche, Transfer, Antigenkonzentrationen etc. im Text und Abbildungen. Die Zahlen für PFC sind auf 10^6 Milzzellen bezogen und stellen das arithmetische Mittel aus den Ergebnissen von jeweils sechs Mäusen dar. Alle Einzelwerte finden sich im tabellarischen Anhang.

VI Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß einer Übertragung von praeimmunisierten Milzzellen auf die Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses syngenetischer Empfänger untersucht. Im einzelnen wurde geprüft, ob die übertragenen Zellen in der Lage waren, im Empfängertier weiterhin Antikörper zu bilden, ob diese in vivo gebildeten Antikörper eine Unterdrückung der Immunantwort bewirken können, die einer Hemmung durch Transfer von spezifischen Antikörpern entspricht, und letztlich sollte eine eventuell unterschiedliche Wirkung von IgM- und IgG-produzierenden Zellen auf diesen Typ der Immunreaktion dargestellt werden. Durch den Transfer der praeimmunisierten Milzzellen wurde eine spezielle Phase der Immunantwort der Empfängertiere beeinflusst: die Entwicklung des spezifischen immunologischen Gedächtnisses, und nach dem bereits vorgestellten Versuchsaufbau wurde speziell die Fähigkeit zur Ausbildung einer Sekundärantwort untersucht.

Die in Abschnitt V 1 a und b beschriebenen Vorversuche dienten zur Bestimmung der IgM- und IgG-PFC der ungestörten Primär- und Sekundärantwort bei (C57 BlxA) F₁ Mäusen während der ersten zehn Tage nach primärem bzw. sekundärem Antigenkontakt. Wie aus Abb. 4 hervorgeht, bilden rund 90 % der am 3. Tag nach Primärsensibilisierung feststellbaren Antikörper-produzierenden Zellen IgM. Dagegen finden sich am 3. Tag nach Sekundärsensibilisierung bereits über 95 % IgG-bildende Zellen (vgl. hierzu Abb. 5). Aus diesem Grunde wurde bei der Untersuchung des Einflusses von IgM-bildenden Zellen auf die Entwicklung des immunologischen Gedächtnisses Transfermaterial verwendet, das entsprechend den Vorversuchen einen sehr hohen IgM-Anteil erwarten ließ; es wurde, wie in 2 A b beschrieben, am 3. Tag nach Primärsensibilisierung Spendertieren entnommen und als "Primärmaterial" bezeichnet. Zur Untersuchung des Einflusses von IgG-bildenden Zellen wurde Transfermaterial verwendet, das entsprechend den Vorversuchen einen sehr hohen Anteil an IgG erwarten ließ; es wurde, wie aus Ab-

schnitt 2 B b hervorgeht, am 3. Tag nach der zweiten Sensibilisierung den Spendertieren entnommen und als "Sekundärmaterial" bezeichnet.

Die in Abschnitt 2 A c beschriebenen und in Tabelle 1 dargestellten Ergebnisse zeigen, daß durch eine Übertragung von Primärmaterial keine signifikante oder auffällige Beeinflussung der Immunantwort der Empfängertiere in bezug auf die IgM-PFC erzielt werden kann. Die statistisch auffällige Differenz bei den IgG-PFC am 2. Untersuchungstag nach dem sekundären Antigenkontakt scheint darauf hinzudeuten, daß eine Beeinflussung der Entwicklung der IgG-Antikörper stattfindet. Da das Primärmaterial jedoch, wie bereits erwähnt, auch 10 % IgG-bildende Zellen enthielt, kann eine Hemmung durch den Einfluß dieser Zellen derzeit nicht ausgeschlossen werden.

Gestützt wird eine solche Annahme durch die in Abschnitt 2 B c beschriebenen und in Tabelle 2 dargestellten Ergebnisse. Sie zeigen klar, daß durch eine Übertragung von Sekundärmaterial in der angegebenen Dosierung (über 95 % der im Transfermaterial nachweisbaren PFC bildeten IgG) die Ausbildung einer Immunantwort, und zwar sowohl der IgM- als auch der IgG-bildenden Zellen, in statistisch auffälliger Weise ($p = 5\%$) gehemmt werden kann. Die zur gleichen Zeit untersuchte Kontrollgruppe KEoB, die einen Transfer nicht vorbehandelter Milzzellen syngenetischer Spendertiere in gleichen Dosen erhielt, zeigte an keinem der Untersuchungstage erniedrigte PFC-Zahlen; auch der Vergleich zur Kontrollgruppe KB ergab hier keinen auffälligen Unterschied. Die von Witzenhause (80) festgestellte generell gesteigerte Immunleistung der Empfängertiere, denen gleiche Anzahlen von Milzzellen nicht vorsensibilisierter Spendertiere übertragen wurden, konnte in unserem Experimentalansatz nicht beobachtet werden. Dies bedeutet nicht notwendigerweise einen Widerspruch: Eine mögliche Erklärung liegt in den unterschiedlichen Zeiträumen zwischen Transfer und Plaquestest, der in unserem Experimentalansatz erheblich größer ist, so daß sich dieser von Witzenhause beobachtete Effekt in dem hier beschriebenen Versuchsaufbau bereits wieder normalisiert

haben kann.

Bei der Interpretation ist zu berücksichtigen, daß die am Transfertag ermittelten Zahlen für IgM- und IgG-bildende Zellen lediglich eine Momentaufnahme eines dynamischen Vorgangs bieten, d.h. über die weitere Entwicklung der Zellen in den Empfängern lassen sich keine eindeutigen Angaben machen. Je nach Art der Sensibilisierung (Primärsensibilisierung, Boosterung) werden am Transfertag Milzzellen mitübertragen, die noch keine IgM- oder IgG-Antikörper produzieren, sondern sich erst später im Empfängertier nach den Vorstellungen von Sterzl (73) und Sercarcz (68) (vgl. a. Abb. 2) in Antikörper-bildende Zellen umwandeln (X in Z bzw. Y in Z) oder auch X in Y, d.h. sog. memory cells, für die dann die erste Sensibilisierung der Empfängertiere bereits einen Sekundärkontakt mit Antigen bedeutet.

Die vorliegenden Resultate zeigen, daß eine Hemmung der Entwicklung des immunologischen Gedächtnisses durch Übertragung spezifisch praeimmunisierter syngenetischer Milzzellen nur mit IgG-produzierenden Zellen erzielt werden kann. In einigen Veröffentlichungen wird die Möglichkeit der Beeinflussung, speziell im Hinblick auf eine Sekundärantwort, zwar negativ beurteilt (17, 62), jedoch ist hierbei zu berücksichtigen, daß die Experimentalansätze der zitierten Autoren von unseren z. T. erheblich abweichen. Interessant erscheint uns aber die Tatsache, daß unsere Ergebnisse durch die Mitteilungen anderer Autoren^(1, 31, 80) gestützt werden, die trotz differierender Experimentalansätze hinsichtlich der Fähigkeit der IgG-bildenden Zellen zu gleichen Resultaten gelangen.

Nach der Entdeckung und Erforschung der verschiedenen Immunglobulin-Klassen wurde vermutet, daß der Ablauf der Immunreaktion beim Warmblüter gegenüber körperfremdem Eiweiß weitgehend von den entsprechenden spezifischen Antikörpern beeinflußt wird. Nach primärem Antigenkontakt wurde beobachtet, daß die anfänglich starke Bildung von IgM-Antikörpern nach wenigen Tagen in zeitlicher Korrelation mit der Zunahme der gebildeten IgG-Antikörper

abnimmt. Der Blutspiegel der 7s-Antikörper (IgG) erreicht im allgemeinen nach einer bestimmten Zeit ein konstantes Niveau, das er permanent oder zumindest über einen längeren Zeitraum beibehält (vgl. hierzu Abb. 3). Es wird nun angenommen, daß die IgM-Produktion durch die auftretenden IgG-Antikörper abgeschaltet wird; diese interne Hemmwirkung wird als negativer Rückkopplungsmechanismus interpretiert (47, 49, 67, 76).

In analoger Weise kann die Ausbildung einer Immunantwort auch durch parenterale Zufuhr von IgG-Antikörpern gehemmt oder verhindert werden: Verschiedene Autoren haben dies mit unterschiedlichen Tierspezies sowohl in vivo (65, 77) als auch in vitro (18, 51, 56) nachgewiesen. Bei der Mehrzahl der Experimente wurden jedoch - im Gegensatz zu den hier durchgeführten Untersuchungen - humorale Antikörper, Antigen-Antikörper-Komplexe, inkomplette Antikörper und Hapten-Carrier-Systeme unter relativ unphysiologischen Bedingungen verwendet (1, 3, 8, 18, 20, 30, 42, 52, 53, 54).

Während nahezu alle Autoren eine Hemmung der Immunantwort bei Zuführung von IgG-Antikörpern finden, werden bei Experimenten mit IgM-Antikörpern unterschiedliche Resultate beobachtet. Dennert (43) verzeichnet bei gemeinsamer Zuführung einer suboptimalen Antigendosis mit spezifischen IgM-Antikörpern eine Steigerung der Immunantwort, Wason (78) ebenfalls, jedoch nicht bei allen untersuchten Spezies. Ähnliche Resultate werden von Henry und Jerne (37) berichtet. Sie fanden, daß eine suboptimale PFC-Antwort von Mäusen auf SRBC-Antigen durch eine unmittelbar vorher erfolgende anti-SRBC-IgM-Antikörper-Injektion um das zehnfache gesteigert werden konnte. Dennert (13) und Wason (78) postulieren eine Anreicherung des Antigens in der Milz durch die Zufuhr von IgM, einen hierdurch bedingten verstärkten Kontakt mit immunkompetenten Zellen und eine daraus resultierende erhöhte Immunantwort. Bei einer Steigerung der Antigendosis auf 10^8 SRBC wurde aber von den gleichen Autoren bei IgM-Gabe eine Verminderung der IgM- und IgG-produzierenden Zellen beobachtet.

Zur Erklärung der regulativen Einflüsse von Antikörpern auf das Antikörper-produzierende System wurden in den verschiedenen Arbeiten unterschiedliche Mechanismen diskutiert. Eine der zur Diskussion gestellten Wirkungsweisen erklärt den hemmenden Effekt von Antikörpern durch rasche Eliminierung von Antigen aus dem Immunapparat. Auf dieser Ebene finden die Resultate einer Reihe von Experimentalsystemen ihre Deutung (40).

Eine weitere Deutung der Hemmwirkung basiert auf der Annahme, daß die Regulierung von Antikörper-produzierenden Zellen durch ihre eigenen Produkte erfolgt, im Sinne einer rückkoppelnden Eigenhemmung; diese Erklärung wurde von Rowley und Fitch 1964 vertreten (63) und 1970 durch die Arbeiten von Diener und Feldmann gestützt (18). In der von ihnen vorgelegten Interpretation sind Antikörper oder Antikörper-Antigen-Komplexe imstande, ein Hemmsignal an antigenspezifische B-Zellen zu liefern, das von dem Antigenreiz selbst unterschieden werden kann.

Wieder andere Autoren haben den beobachteten Antikörper-bedingten Hemmeffekt auf die Maskierung von Antigen determinanten durch Antikörper zurückgeführt, die auf solche Weise von B-Zellrezeptoren ferngehalten oder nicht erkannt werden können. Diese Annahme wurde 1968 von Uhr und Möller (77) vorgestellt und damit begründet, daß die spezifisch gerichteten Antikörper die ihnen korrespondierenden Determinanten auch komplexer Moleküle abdecken und somit die Antwort selektiv gegenüber diesen Determinanten hemmen, ohne die Antwort gegen andere, möglicherweise auf dem gleichen Molekül befindlichen Determinanten zu beeinflussen.

Die vorgestellten Mechanismen laufen letzten Endes auf zwei Theorien hinaus, die in der letzten Zeit hauptsächlich in der Diskussion stehen, die sog. "periphere" und die "zentrale" Theorie.

Die Vertreter der "peripheren" Theorie führen die Antikörper-vermittelte Immunsuppression auf die funktionelle Neutralisierung der antigenen Determinanten in der Peripherie zurück. Durch deren Maskierung sind die immunkompetenten Zellen nicht in der Lage,

das spezifische Antigen zu erkennen (37, 39, 77). Nach Finger (21) dürfen dann aber weder die meisten der dabei gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe noch deren in vivo gebildete Metabolite immuno-gen wirksam sein. Diener und Feldmann (18, 19) erzielten durch Gabe von Antigen-Antikörper-Komplexen eine Hemmung der Immunantwort, dies würde dem Postulat Fingers entsprechen, daß die Komplexe nicht immuno-gen sind, sondern rückkoppeln: die beobachtete "Hemmung" ist jedoch möglicherweise der Ausdruck fehlender "Immuno-genität".

Weiterhin müßte unter der Voraussetzung, daß die "periphere" Theorie zutrifft, zu beobachten sein, daß ein zweiter Kontakt mit dem gleichen Antigen bei einem Warmblüter den gleichen Effekt hat wie der erste, d.h. es wäre zu erwarten, daß nach Blockung der Immunantwort durch Antigen-Antikörper-Komplexe und nochmaliger Gabe von Antigen eine Primärantwort resultiert. Da dies nicht der Fall ist, wie die Ergebnisse von Finger und Emmerling (21) zeigen, muß etwas anderes geschehen sein als nur eine Maskierung und Fernhaltung des Antigens. Die Befunde stützen somit eher die "zentrale" Theorie, die von Rowley und Fitch (63) erstmals 1964 aufgestellt wurde, als sie zeigen konnten, daß lymphatische Zellen von passiv immunisierten Ratten nach Übertragung in bestrahlte Empfängertiere der gleichen Spezies auf einen antigenen Reiz mit einer stark verminderten Antikörperproduktion reagierten. Ähnliche Ergebnisse wurden von Abrahams (1) und Feldmann (18) in vitro erzielt; Abrahams hemmte die immunologische Reaktivität von Milzzellen durch Praeinkubation mit IgG-Antikörpern, Feldmann und Mitarbeiter fanden Immunsuppression nach Einwirkung von Antigen-Antikörper-Komplexen auf Milzzellen nicht immunisierter Mäuse.

Kappler (39) fand im Gegensatz zu Feldmann bei ähnlichem Experimentalansatz keine Beeinflussung der immunologischen Reaktivität. Er schloß daher einen zentralen Effekt aus und unterstützte die Vorstellung einer "peripheren" Inaktivierung des zugeführten Antigens.

Die bislang überzeugendsten Argumente für die Vertreter der "zentralen" Theorie brachten wohl die Ergebnisse der Untersuchung von Sinclair und Mitarbeitern. Ihre Befunde über die immunsuppressive Aktivität von passiv zugeführten kompletten Antikörpern und $F(ab)_2$ -Fragmenten zeigen, daß eine Immunantwort durch gleichzeitige Applikation von $F(ab)_2$ -Stücken mit dem speziellen Antigen gehemmt werden kann. Werden die $F(ab)_2$ -Fragmente später appliziert, kann eine Hemmung nicht mehr beobachtet werden. Da aber bei Gabe von kompletten IgG-Antikörpern zeitlich nach der Antigengabe ein Hemmeffekt festzustellen ist, folgern die Autoren, daß die Hemmwirkung der $F(ab)_2$ -Stücke nur durch Maskierung von Antigen determinanten zustande kommt, während sie die Hemmung durch komplette Antikörper an einem zentralen Angriffspunkt unter Mitwirkung des Fc-Stückes vermuten (9, 69, 70, 71). Abrahams (1) postuliert ebenfalls die Unterdrückung der Immunantwort durch Beteiligung des Fc-Stückes, durch Bindung an die Oberfläche von Makrophagen.

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Experimente zur Beeinflussung der Ausbildung eines spezifischen immunologischen Gedächtnisses durch Applikation von Antikörpern wurden erstmals unter Verwendung von Milzzellen als Transfermaterial durchgeführt, die zur Bildung von anti-SRBC-Antikörpern durch vorherige Immunisierung der Spender veranlaßt wurden. Gleichzeitig mit den hier beschriebenen Untersuchungen testete Witzhausen unter Zuhilfenahme der gleichen Methoden die Beeinflußbarkeit der primären Immunreaktion (80). Er konnte eine klare Abhängigkeit der induzierten Hemmung von der Zahl übertragener IgG-bildender Zellen nachweisen und darüber hinaus die Antigenspezifität dieses Effektes dokumentieren. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse, die durch Berichte anderer Autoren unterstützt werden (23,34) wurde in der vorliegenden Arbeit auf die Untersuchung dieser zusätzlichen Punkte verzichtet.

Durch zahlreiche Untersuchungen bei der Maus sowohl in vitro als auch in vivo wurde festgestellt, daß bei der Immunantwort auf SRBC ein Zusammenwirken von T-Zellen, B-Zellen und Makrophagen

erforderlich ist (7, 12, 44, 45). Der zentrale Angriffsort für die Antikörper-vermittelte Hemmung ist also bei einer oder mehreren dieser Zellen zu suchen.

Die schon von Uhr (76) diskutierte Möglichkeit der Mitwirkung von Makrophagen bei der immunsuppressiven Wirkung von passiv zugeführten Antikörpern wurde auch von anderen Untersuchern angenommen (1, 30, 51, 66, 75). Abrahams (1) ist der Auffassung, daß die Makrophagen, die sich vor der Sensibilisierung mit passiv applizierten IgG-Antikörpern verbinden, ihr Verhalten derart verändern, daß das Antigen den immunkompetenten Lymphozyten nicht mehr in immunogener Form dargeboten werden kann. Die Berichte von Hamaoka et.al. (31, 32) zeigen ebenfalls eine Mitwirkung von Makrophagen bei der Immunreaktion, sie stehen jedoch im Widerspruch zu den hier vorgestellten Ergebnissen. Hamaoka gelang der Nachweis, daß in Gegenwart von IgG-Antikörpern Antigen durch Makrophagen schneller aufgenommen wird und dadurch eine effektivere antigene Stimulierung der Gedächtniszellen zustande kommt als durch alleinige antigene Stimulierung. Dies würde im Endeffekt einer Steigerung der Immunreaktivität durch Zufuhr von IgG-Antikörpern entsprechen - ein deutlicher Unterschied zu den hier vorgelegten Befunden.

Nachdem experimentell nachgewiesen wurde, daß sich auf der Oberfläche von Lymphozyten antigenspezifische Rezeptoren befinden, die bei B-Zellen als Immunglobuline identifiziert wurden (10, 55, 57, 58), stellten Feldmann und Diener die B-Zellen als zentralen Angriffsort der Antikörper-bedingten Hemmung zur Diskussion (18, 19). Sie nehmen an, daß die an B-Zellen gebundenen Antigen-Antikörper-Komplexe durch noch freie Antigen-determinanten zur Brückenbildung zwischen mehreren Rezeptorarealen beitragen und auf diese Weise den Verlust der immunologischen Leistung der B-Zellen herbeiführen, ohne daß hiermit der molekulare Mechanismus erklärt wäre. Dies ist auch nicht ohne weiteres verständlich und einzusehen. Wenn die Autoren der Meinung sind, daß durch Antigen-Antikörper-Komplexe Brücken über mehrere Rezeptoren geschlagen werden, muß dem ent-

geengehalten werden, daß die sehr geringe Dosis von Antikörpern, die zur effektiven Hemmung ausreicht, nicht zur genügenden Brückenbildung auf allen reaktiven Lymphozyten ausreichen kann. Dies allein spricht schon gegen die Vernetzungs- bzw. Brückenbildungstheorie. Finger und Emmerling (21) zogen aus den Resultaten ihrer Experimente ebenfalls den Schluß, daß passiv applizierte Antikörper zu einer funktionellen Inaktivierung zumindest eines Teils der zur Verfügung stehenden B-Zellen führen müßte (17, 22). Ihre Vermutungen gehen dahin, daß die spezifisch und prinzipiell reversibel an den B-Zellen gebundenen Antigen-Antikörper-Komplexe neben einer Maskierung der antigenspezifischen Rezeptoren den Verlust des Proliferations- und Differenzierungsvermögens der B-Zellen verursachen.

Playfair (55), Rieber (59) und andere Autoren (60, 67) haben auch an der Oberfläche von T-Lymphozyten Antikörper-analoge Antigenrezeptoren nachgewiesen. Diese Zellen könnten also ebenfalls bei der Antikörper-vermittelten Hemmung der Immunantwort eine zentrale Rolle spielen. Andere Untersucher wie Basten (4) und Bianco (6) bestreiten aufgrund ihrer Beobachtungen die Existenz der Ig-Rezeptoren auf den T-Zellen. So beschreibt beispielsweise Adams (2) bei T-Zellen in den ersten 20 Stunden nach Antigenkontakt die Produktion eines unspezifischen Faktors, der auf die Proliferation der B-Zellen stimulierend wirkt. Die Frage der T-Lymphozyten-abhängigen Hemmung der Immunreaktion ist weiterhin unklar. Droege (16) und Gershon (27) konnten jedoch eine Hemmung der Immunantwort nach Applikation von T-Zellen nachweisen. Gershon hebt aufgrund seiner Beobachtungen auch eindeutig hervor, daß T-Lymphozyten die Antigen-induzierte Antwort anderer T-Zellen ohne Mitwirkung von B-Zellen oder ihrer Produkte (d.h. von Antikörpern) beeinflussen können (27). Die zu dieser Hemmung fähigen Lymphozyten bezeichnet er als "Suppressorzellen". Nach Gershon besitzen sie ihre Fähigkeit zur Hemmung aufgrund ihrer anatomischen Lokalisation (28), wo sie wahrscheinlich über Freisetzung von Faktoren unbekannter Art eine Hemmwirkung ausüben, deren Mechanismus ebenfalls noch unbekannt ist. Durch die "Rückkopplungssignale" wird die Antwort der primär reagierenden Zelle beeinflußt (29).

Trotz dieser teilweise recht komplizierten Hinweise darauf, daß die T-Zellen bei der Regulierung der Antikörper-vermittelten Immunsuppression den zentralen Angriffsort darstellen könnten, stehen schlüssige Beweise hierfür noch aus. Auch Untersuchungen mit T-Zell-abhängigen Antigenen und Verwendung von Hapten-Carrier-Systemen (42, 43, 52, 53, 54, 55) konnten keine endgültige Klarheit bringen. Daß bei den vorliegenden Untersuchungen Suppressorzellen mitübertragen wurden, kann zwar nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Es erscheint uns jedoch zur Erklärung der beobachteten Hemmwirkung auch ohne Relevanz, da bei neueren Untersuchungen gleicher Art nach Inkubation des Transfermaterials mit Anti- θ -Serum, womit die Übertragung von aktiven T-Suppressor-Zellen ausgeschlossen wird, die gleiche Hemmung der Immunreaktivität der Empfängertiere erzielt wurde (pers. Mitteilung von Botzenhardt, Lemmel und Witzhausen, noch unveröffentlicht).

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und der bisher vorliegenden Literatur geht nicht eindeutig hervor, wie der Ablauf der durch Antikörper hervorgerufenen Beeinflussung der Immunantwort zu erklären ist. Je nach Versuchsaufbau scheinen hierfür zwei Mechanismen, unabhängig voneinander oder auch unter gegenseitiger Beeinflussung, wirksam zu werden. Die bisher veröffentlichten Berichte geben Hinweise für eine Beteiligung sowohl des peripheren als auch des zentralen Mechanismus. Welche dieser beiden Möglichkeiten im Endeffekt jeweils die Hemmung der Immunantwort steuert, wird vermutlich vom experimentellen System, von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Antigens, Ig-Klasse und Dosis der applizierten Antikörper, der Tierspezies, der Art der Sensibilisierung, zeitlichen Konstellationen und anderen, noch unbekannten Faktoren bestimmt. Eindeutige Befunde hinsichtlich des durch den jeweiligen Hemmechanismus vorwiegend beeinflussten Zelltyps liegen nicht vor. Die Resultate der Mehrzahl der Untersucher deuten jedoch insbesondere auf die B-Zellen.

Trotz der noch vielfach lückenhaften Kenntnis der bei den Immunreaktionen ablaufenden Mechanismen hat die Methode der Beeinflus-

sung der Immunantwort durch passiv zugeführte Antikörper in der Klinik bereits große Bedeutung erlangt. Gegen Ende des letzten Jahrhunderts fand Behring (5) eine Methode, durch Zuführung von Antitoxin (d.h. spezifischen Antikörpern) Diphtheriekrankheit zu heilen, und zeigte damit einen Weg, auch andere Erkrankungen wie beispielsweise Tollwut und Wundstarrkrampf zu bekämpfen. Auch die Prophylaxe des morbus haemolyticus neonatorum wird seit einigen Jahren mit gutem Erfolg durch Gabe von anti-D-Serum zur Unterdrückung der Antikörperbildung bei der Mutter durchgeführt (25, 26).

Weiterhin haben Erkenntnisse über die Antikörper-vermittelte Hemmung im Hinblick auf die in den letzten Jahren zunehmend durchgeführten heterogenen Organtransplantationen der Chirurgie neue Möglichkeiten erschlossen. Bereits 1968 glaubten Axelrad und Rowley, aufgrund ihrer Experimente eine rationale Grundlage für eine einfache Methode, die Lebensdauer von Allotransplantaten zu verlängern, gefunden zu haben(3). Ausgehend von der gleichen Überlegung erzielte im gleichen Jahr auch Stuart (74) erfolgreiche Nierentransplantationen bei Ratten: er verlängerte die Lebensdauer der transplantierten Nieren durch Kombination von i. v. Injektionen von Spendertier-Milzzellen einen Tag vor der Transplantation und passiver Immunisierung der Empfänger mit Antiserum.

Schließlich soll noch die Tetanus-Prophylaxe als Beispiel für Antikörper-vermittelte Hemmung angeführt werden. Hierbei werden dem Körper meist simultan Toxoid und spezifische Antikörper zugeführt, insbesondere dann, wenn nach einer eingetretenen Verletzung eine akute Infektion befürchtet werden muß. Bis zum Aufbau der körpereigenen Abwehr, provoziert durch das Toxoid, soll durch die gleichzeitig gegebenen spezifischen Antitoxine der Körper während des sog. "schutzlosen Intervalls" gegen eine Infektion geschützt werden. Finger und andere Autoren (23, 48, 50) halten die simultane Applikation von Toxoid und spezifischen Antikörpern sowohl bei der Tetanus- als auch bei der Rabies-Prophylaxe für problematisch; die bisher vorgelegten tierexperimentellen Befunde, einschließlich unserer eigenen, sprechen für eine

immunsuppressive Wirkung passiv zugeführter Antikörper. Mit dieser Maßnahme wird aber die Ausbildung einer aktiven körpereigenen Abwehr eher in Frage gestellt. Wir sind jedoch der Ansicht, daß die Diskussion hierüber nicht beendet ist und die Indikation für passive Immunisierung im Einzelfall abgewogen werden muß. Gerade bei einer möglicherweise bereits eingetretenen Infektion mit z. B. Clostridium Tetani ist die passive Zufuhr spezifischer Antikörper für den betroffenen Patienten von vitaler Bedeutung, da sie zu einer Neutralisation des Toxins führen ("peripherer Effekt"). Eine Hemmung seiner aktiven körpereigenen Immunleistung ("zentraler Effekt") muß in diesem Fall in Kauf genommen werden.

VII Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß auf die Entwicklung des immunologischen Gedächtnisses bei (C57 BlxA) F₁ Mäusen durch Übertragung syngenetischer spezifisch praeimmunisierter Milzzellen untersucht. Im einzelnen wurde geprüft, ob spezifisch vorimmunisierte Zellen nach Übertragung noch die Fähigkeit zur Antikörperbildung besitzen, ob sie weiterhin die Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses hemmen können, und schließlich wurde die unterschiedliche Wirkung von IgM- und IgG-produzierenden Zellen auf diesen Typ der Immunreaktion dargestellt.

Die Resultate zeigen deutlich, daß die Milzzellen ihre Fähigkeit, Antikörper zu bilden, auch nach Transfer in syngenetische Empfängertiere behalten. Weiterhin konnte festgestellt werden, daß die Übertragung von vorwiegend IgM-bildenden Zellen keine Hemmung der frühen Phase der Ausbildung des immunologischen Gedächtnisses bewirkt; somit befinden sich diese Befunde im Einklang mit zahlreichen Berichten anderer Autoren. Eine ausgeprägte Hemmung der Ausbildung des immunologischen Gedächtnisses war jedoch durch die Übertragung von vorwiegend IgG-bildenden Zellen darzustellen. Sowohl die IgM-PFC als auch die IgG-PFC wurden nach sekundärer Antigeninjektion in statistisch auffälliger Weise an beiden Untersuchungstagen reduziert.

Die erhobenen Befunde werden im Hinblick auf die in der Literatur vorliegenden Mitteilungen diskutiert, nach denen negative Rückkopplungsmechanismen Ausmaß und Dauer der Immunreaktion bestimmen. Die in diesem Zusammenhang diskutierten, möglicherweise zugrunde liegenden Regelmechanismen werden, auch im Hinblick auf die eigenen hier vorgelegten Befunde, erörtert.

Die Konsequenzen, die die vorgelegten Experimentalergebnisse hinsichtlich klinischer Aspekte aufzeigen, wurden im Hinblick auf Rh-Prophylaxe, Schutzimpfungen und Transplantationsprobleme besprochen.

VIII Literaturverzeichnis

1. Abrahams, S., R.A. Phillips, R.G. Miller:
Inhibition of the Immune Response by 7s Antibody.
Mechanism and Site of Action.
J. Exp. Med. 137, 870 (1973)
2. Adams, P. B.:
The Mechanism of Interaction Between T and B Lymphocytes
in the Vitro Response to Sheep Erythrocytes.
Immunology 28, 253 (1975)
3. Axelrad, M., D. A. Rowley:
Hypersensitivity: Specific Immunologic Suppression of the
Delayed Type.
Science 160, 1465 (1968)
4. Basten, A., J. F. A. P. Miller, J. Sprent, J. Pye:
A Receptor for Antibody on B-Lymphocytes. I. Method of
Detection and Functional Significance.
J. Exp. Med. 135, 610 (1972)
5. Behring, E. v.:
Die Blutserumtherapie zur Diphtheriebehandlung des Menschen
o.O. (um 1895) R 4221 Univ.-Bibl. Mainz
6. Bianco, C., R. Patrick, V. Nussenzweig:
A Population of Lymphocytes Bearing A Membrane Receptor for
Antigen-Antibody-Complement Complexes I:
Separation and Characterization
J. Exp. Med. 132, 702 (1970)
7. Byrd, W.:
Restoration of the Immune Response to Sheep Erythrocytes by
A Serum Factor.
Nature New Biology 231, 280 (1971)

8. Cerottini, J. C., P.J. McConahey, F. J. Dixon:
The Immunosuppressive Effect of Passively Administered
Antibody IgG-Fragments.
J. Immunol. 102, 1008 (1969)
9. Chan, P. L., N. R. St. C. Sinclair:
Regulation of the Immune Response. V. An Analysis of the
Function of the Fc-Portion of Antibody in Suppression of
an Immune Response With Respect to Inter-Action With Com-
ponents of the Lymphoid System.
Immunology 21, 967 (1971)
10. Coombs, R. R. A., A. Feinstein, A. B. Wilson:
Immunoglobulin Determinants on the Surface of Human Lymphocytes.
Lancet II, 1157 (1969)
11. Cunningham, A. S., A. Szenberg:
Further Improvements in the Plaque-Technique for Detecting
Single Antibody-Forming Cells.
Immunology 14, 599 (1968)
12. Davies, A. J. S.:
The Thymus and the Cellular Basis of Immunity.
Transplantation Review 1, 43 (1969)
13. Dennert, G.:
The Mechanism of Antibody-Induced Stimulation and Inhibition
of the Immune Response.
J. Immunol. 106, 951 (1971)
14. Diener, E., M. Feldmann:
Antibody-Mediated Suppression of the Immune Response in Vitro.
II. A New Approach to the Phenomenon of Immunological Tolerance.
J. Exp. Med. 132, 31 (1970)
15. Dresser, D. W., Greaves:
Handbook of Experimental Immunology.
E. D. Weir, D. M. Second Edition 1973

16. Droege, W.:
Amplifying and Suppressive Effect of Thymus Cells.
Nature 234, 549 (1971)
17. Emmerling, P., H. Finger, L. Eisele:
Hemmung der sekundären 7s-Antikörperbildung durch Antikörper-
induzierte Unterdrückung der immunologischen Primärreaktion.
Z. med. Mikrobiol. Immunol. 156, 70 (1970)
18. Feldmann, M., E. Diener:
Antibody-Mediated Suppression of the Immune Response in Vitro.
I. Evidence for a Central Effect.
J. Exp. Med. 131, 247 (1970)
19. Feldmann, M., E. Diener:
Antibody-Mediated Suppression of the Immune Response in Vitro.
III. Low Zone Tolerance in Vitro.
Immunology 21, 387 (1971)
20. Feldmann, M., J. Palmer:
The Requirement for Macrophages in the Secondary Immune Response
to Antigens of Small and Large Size in Vitro.
Immunology 21, 685 (1970)
21. Finger, H., P. Emmerling:
Immunsuppression durch Antikörper.
Immunität und Infektion 3, 3 (1975)
22. Finger, H., P. Emmerling, L. Eisele:
Ober die Bedeutung immunologischer Adjuvantien für die Simultane
Schutzimpfung. Modell-Untersuchungen auf zellulärer und humoraler
Ebene.
Z. immunolog. Forschung 142, 1 (1971)
23. Finger, H., H. P. R. Seeliger:
Probleme der simultanen Verabfolgung von Tetanus-Antiserum
und Tetanustoxoid.
Öff. Gesundheitswesen 34, 459 (1972)

24. Fink, C.W., J. J. Lospalluto:
The Effect of 7s and 19s Antibodies in the Primary Response to Salmonella Typhi Antigen.
Immunology 12, 259 (1967)
25. Freda, V. J., J. G. Gormann, W. Pollack:
Successful Prevention of Experimental Rh Sensitization in Man With Anti-Rh-Gammaglobulin Antibody Preparation (Preliminary Report).
Transfusion 4, 26 (1964)
26. Freda, V. J., J. G. Gormann, W. Pollack:
Rh-Factor: Prevention of Isoimmunization and Clinical Trial in Mothers.
Science 151, 828 (1966)
27. Gershon, R. K., P. Cohen, R. Hencin, S. A. Liebhaver:
Suppressor T Cells.
J. Immunology 108, 586 (1972)
28. Gershon, R. K., E. M. Lance, K. Kondo:
Immuno-Regulatory Role of Spleen Localizing Thymocytes.
J. Immunology 112, 546 (1974)
29. Gershon, R. K., S. Liebhaver, S. Ryn:
T-Cell Regulation of T-Cell Responses to Antigen.
Immunology 26, 909 (1974)
30. Grantham, W. G., F. W. Fitch:
The Role of Antibody Feedback Inhibition in the Regulation of the Secondary Response After High and Low Dose Priming.
J. Immunology 114, 394 (1975)
31. Hamaoka, T., M. Kitagawa:
Antibody Production in Mice. II. The Mechanism of Antigenic Stimulation in the Secondary Immune Response.
Immunology 20, 191 (1971)

32. Hamaoka, T., K. Takatsu, H. Masaki, Y. Matsuoka, M. Kitagawa:
Antibody Production in Mice. III. The Suppressive Effect of
Antibody on the Initiation of the Secondary Response.
Immunology 20, 871 (1971)
33. Hanna, M. G., P. Nettesheim, M. W. Francis:
Requirement for Continuous Antigenic Stimulation in the
Development and Differentiation of Antibody-Forming Cells.
The Effect of Passive Antibody on the Primary and Secondary
Response.
J. Exp. Med. 129, 953 (1969)
34. Hanna Jr., M. G., L. C. Peters:
Requirement for Continuous Antigenic Stimulation in the
Development and Differentiation of Antibody-Forming Cells:
Effect of Antigen Dose.
Immunology 20, 707 (1971)
35. Hege, J. S., L. S. Cole:
Antibody-Plaque-Forming Cells. Kinetics of Primary and Sec-
ondary Responses.
J. Immunology 96, 559 (1966)
36. Hellström, K.-E., Sjögren:
Serum Mediated Inhibition of Cellular Immunity to Methylcholanthren
Induced Murine Sarcomas.
Cell. Immunology 1, 18 (1970)
37. Henry, C., N. K. Jerne:
Competition of 19s and 7s Antigen Receptors in the Regulation
of the Primary Immune Response.
J. Exp. Med. 128, 133 (1968)
38. Jerne, N. K., A. A. Nordin:
Plaque Formation in Agar by Single Antibody-Producing Cells.
Science 140, 405 (1963)

39. Kappler, J. W., A. v. d. Hoven, U. Dharmarajan, M. Hoffmann:
Regulation of the Immune Response. IV. Antibody-Mediated
Suppression of the Immune Response to Haptens and Hetero-
logous Erythrocyte Antigens in Vitro.
J. Immunol. 111, 1228 (1963)
40. Kappler, J. W., M. Hoffmann, R. W. Dutton:
Regulation of the Immune Response. I. Differential Effect
of Passively Administered Antibody on the Thymus-Derived
and Bone Marrow-Derived Lymphocytes.
J. exp. Med. 134, 577 (1971)
41. Lemmel, E.-M., U. Botzenhardt:
Immunsuppressive Behandlung der Erkrankung des rheumatischen
Formenkreises.
Experimentelle Grundlagen für ein rationales Therapiekonzept.
Arzneim.-Forsch. 26, (1976) (im Druck)
42. McBride, R. A., L. W. Schierman:
Hapten-Carrier Relationship of Isoantigens. A Model for
Immunological Maturation Based on the Conversion of Haptens
to Carrier by Antibody.
J. Exp. Med. 131, 377 (1970)
43. McBride, R. A., L. W. Schierman:
Thymus Dependency of Antibody-Mediated Helper Effect.
J. Immunol. 110, 1710 (1973)
44. Miller, J. F. A. P., G. F. Mitchell:
Cell to Cell Interaction in the Immune Response. I. Hemolysin-
Forming Cells in Neonatally Thymectomized Mice Reconstituted
With Thymus or Thoracic Duct Lymphocytes.
J. Exp. Med. 128, 801 (1968)
45. Miller, J. F. A. P., G. Mitchell:
Thymus and Antigen Reactive Cells.
Transplantation Review 1, 43 (1969)

46. Mitchell, G. F., J. F. A. P. Miller:
Cell to Cell Interaction in the Immune Response. II. The
Source of Hemolysin-Forming Cells in Irradiated Mice Given
Bone Marrow and Thymus or Thoracic Duct Lymphocytes.
J. Exp. Med. 128, 821 (1968)
47. Möller, G., H. Wigzell:
Antibody Synthesis At the Cellular Level. Antibody-Induced
Suppression of 19s and 7s Antibody Response.
J. Exp. Med. 121,969 (1965)
48. Mörl, F.:
Ergebnisse und Schlußfolgerungen der Serumtiterbestimmung
bei der simultanen Tetanusprophylaxe.
Langenbecks Arch. d. klin. Chirurgie 279, 209 (1954)
49. Morris, A., G. Möller:
Regulation of Cellular Antibody Synthesis. Effect of Adop-
tively transfered Antibody-Producing Spleen Cells on Cellular
Antibody Synthesis.
J. Immunol. 101, 439 (1968)
50. Otten, C., Ph. Hennemann:
Combined (Simultaneous) Immunization Against Tetanus.
J. Path. Bact. 49, 213 (1939)
51. Pierce, C. W.:
Immune Response in Vitro. II. Suppression of the Immune Response
in Vitro by Specific Antibody.
J. Exp. Med. 130, 365 (1969)
52. Pincus, C., V. Nussenzweig:
Passive Antibody May Simultaneously Suppress and Stimulate
Antibody Formation Against Different Portions of a Protein
Molecule.
Nature 222, 594 (1969)

53. Pincus, C., M. E. Lamm, V. Nussenzweig:
Regulation of the Immune Response: Suppressive and Enhancing
Effects of Passively Administered Antibody.
J. Exp. Med. 133, 987 (1971)
54. Pincus, C., G. Miller, V. Nussenzweig:
Enhancement of An Anti-Hapten Response By An Antiserum to the
Carrier Protein.
J. Immunol. 110, 301 (1973)
55. Playfair, J. H. L.:
The Role of Antibody in T-Cell Responses.
Clin. Exp. Immunol. 17, 1 (1974)
56. Radcliffe, G. N., M. A. Axelrad:
Immunological Memory in Vitro.
J. Exp. Med. 133, 846 (1971)
57. Raff, M. C., M. Feldmann, S. de Petris:
Monospecificity of Bone Marrow-Derived Lymphocytes.
J. Exp. Med. 137, 1024 (1973)
58. Raff, M. C., M. Sternberg, R. B. Taylor:
Immunoglobulin Determinants on the Surface of Mouse
Lymphoid Cells.
Nature 225, 553 (1970)
59. Rieber, E. P., G. Riethmüller:
Surface Immunoglobulin on Thymus Cells. I. Increased
Immunogenicity of Heterologous Anti-Ig Bound to Thymus Cells.
Z. Imm. Forsch. 147, 262 (1974)
60. Rieber, E. P., G. Riethmüller:
Surface Immunoglobulin on Thymus Cells. II. Release of
Heterologous Anti-Ig-Antibodies from Thymus Cells As An
Immunogenic Complex.
Z. Imm. Forsch. 147, 276 (1974)

61. Roelants, G. E., A. Rydén, L. B. Hägg, F. Looz:
Active Synthesis of Immunoglobulin Receptors for Antigen
By T-Lymphocytes.
Nature 247, 106 (1974)
62. Rowley, D. A., F. W. Fitch:
Clonal Selection And Inhibition of the Primary Response
By Antibody.
Ch. Thomas, Springfield/Illinois, pp. 127 - 140 (1968)
63. Rowley, D. A., F. W. Fitch:
Homeostasis of Antibody Formation in the Adult Rat.
J. Exp. Med. 120, 987 (1964)
64. Rowley, D.A., F. W. Fitch, M. A. Axelrad, C. W. Pierce:
The Immune Response Suppressed By Specific Antibody.
Immunology 16, 549 (1969)
65. Rowley, D. A., F. W. Fitch, F. P. Stuart, H. Köhler, H. Cosenza:
Specific Suppression of Immune Responses. Antibody Directed
Against Either Antigen Or Receptors for Antigen Can Suppress
Immunity Specifically.
Science 181, 1133 (1973)
66. Ryder, R. J. W., R. S. Schwartz:
Immunosuppression By Antibody: Localization of Site of Action.
J. Immunol. 103, 970 (1969)
67. Sahiar, K., R. S. Schwartz:
Inhibition of 19s Synthesis by 7s Antibody.
Science 145, 395 (1964)
68. Sercarz, E., A. Coons:
The Exhaustion of Specific Antibody Producing Capacity During
a Secondary Response. In: Mechanism of Immunological Tolerance.
E. D. M. Hašek, A. Lengerova, N. Voitiskova Publ. House
Czechoslov. Akad. Sci., Prague, pp. 73 - 85

69. Sinclair, N. R. St. C.:
Regulation of the Immune Response. I. Reduction in Ability
of Specific Antibody to Inhibit Long-Lasting IgG Immuno-
logical Priming After Removal of the Fc-Fragment.
J. Exp. Med. 129, 1163 (1969)
70. Sinclair, N. R. St. C., P. L. Chan, R. K. Lees, E. v. Elliott:
Role of the Fc-Fragment in the Regulation of the Primary
Immune Response.
Nature 220, 1048 (1968)
71. Sinclair, N. R. St. C., R. K. Lees, P. L. Chan, R. H. Kahn:
Regulation of the Immune Response. II. Further Studies on
Differences in Ability of F(ab)₂ and 7s Antibodies to Inhibit
An Antibody Response.
Immunology 19, 105 (1970)
72. Smith, T.:
Active Immunity Produced By So Called Balanced Or Neutral
Mixtures of Diptheria Toxin and Antitoxin.
J. Exp. Med. 11, 241 (1909)
73. Sterzl, J.:
Studies on Differentiation of Immunocompetent Cells Using
Immunological Inhibition.
Antibiotica et Chemotherapeutica 15, 135 (1969)
74. Stuart, F. P., T. Saitoh, F. W. Fitch:
Rejection of Renal Allografts: Specific Immunologic Suppression.
Science 160, 1463 (1968)
75. Theis, G. A., G. J. Thorbecke:
The Proliferative and Anamnestic Antibody Response of Rabbit
Lymphoid Cells in Vitro. II. Requirement for Adherent and
Nonadherent Cells of the Responses to Particulate Antigens in
Spleen Cell Cultures.
J. Exp. Med. 131, 970 (1970)

76. Uhr, J. W., J. B. Baumann:
Antibody Formation. I. The Suppression of Antibody Formation
by Passively Administered Antibody.
J. Exp. Med. 113, 935 (1961)
77. Uhr, J. W., G. Möller:
Regulatory Effect of Antibody on the Immune Response.
Advanc. Immunol. 8, 81 (1968)
78. Wason, W. M.:
Regulation of the Immune Response With Antigen Specific IgM
Antibody: A Dual Role.
J. Immunol. 110, 1245 (1973)
79. Wigzell, H.:
Antibody Synthesis At the Cellular Level. Antibody-Induced
Suppression of 7s Antibody Synthesis.
J. Exp. Med. 124, 953 (1966)
80. Witzenhausen, W.:
Die Hemmung der Primärantwort gegen Schafererythrozyten bei
der Maus durch Übertragung spezifisch vorimmunisierter Zellen.
Med. Dissertation Mainz (1975)

Tabellarischer Anhang

Einzelwerte und deren statistische Berechnung

Alle Einzelwerte der PFC sind pro 10^6 Milzzellen angegeben. Zur Erläuterung der nachfolgenden Tabellen und der statistischen Auswertung ist zu bemerken:

Es werden jeweils zwei Gruppen miteinander verglichen. Die Einzelwerte der beiden Gruppen werden in der Reihenfolge ihrer Absolutwerte geordnet und mit sog. Rangzahlen versehen. Der größte Einzelwert erhält die Rangzahl 1, der zweitgrößte die Rangzahl 2 etc. Besteht jede Gruppe aus sechs Einzelwerten und sind alle Einzelwerte einer Gruppe größer als die der mit ihr verglichenen Gruppe, so setzt sich die Summenrangzahl der Gruppe mit den hohen Werten aus den Rangzahlen $1 + 2 + 3 + 4 + 5 + 6$ zusammen und ergibt folglich 21; die Summenrangzahl der Gruppe mit den niedrigen Werten ist daher $7 + 8 + 9 + 10 + 11 + 12 = 57$.

Diese Summenrangzahlen finden sich in den Feldern der Tabellen der statistischen Berechnung. Hierbei ist stets die Summenrangzahl der Gruppe in der waagrechten Spalte zu der in der senkrechten Spalte angegeben. Die Summenrangzahlen 21, 22, 56 und 57 bedeuten aufgrund der nur niedrigen Zahl von Versuchstieren einen statistisch auffälligen ($p \leq 5\%$) Unterschied zwischen den jeweils verglichenen Gruppen. Ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den miteinander verglichenen Gruppen besteht nicht bei Summenrangzahlen von einschließlich 23 bis 55.

Eine statistische Signifikanz oder Gleichheit ($p \leq 2\%$) läßt sich, bedingt durch die Anzahl der Versuche und Versuchstiere pro Gruppeneinheit, nicht beweisen.

Einzelwerte der Tiere der Gruppen P 3 bis P 10 (Primärantwort), aus denen die in Abb. 4 angegebenen Mittelwerte berechnet wurden. (IgM- bzw. IgG-PFC pro 10^6 Milzzellen)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	Mw	Gruppe
IgM-PFC	79	48	288	120	78	54	111	P3
IgG-PFC	58	-	28	-	-	-	14	
IgM-PFC	782	428	1322	1214	450	1295	915	P4
IgG-PFC	538	159	538	459	-	110	301	
IgM-PFC	2680	1860	3400	2190	2850	3880	2810	P5
IgG-PFC	828	5300	6800	910	6600	1960	3733	
IgM-PFC	815	1010	2275	2225	1060	1830	1530	P6
IgG-PFC	2620	5200	5050	5800	3985	880	3920	
IgM-PFC	999	933	1073	759	606	1524	982	P8
IgG-PFC	757	770	667	528	1241	1948	985	
IgM-PFC	409	380	226	565	845	2350	796	P10
IgG-PFC	6400	2900	1045	1245	3610	8100	3884	

Einzelwerte der Tiere der Gruppe S 2 bis S 10 (Sekundarantwort),
aus denen die in Abb. 5 angegebenen Mittelwerte berechnet wurden.
(IgM- bzw. IgG-PFC pro 10^6 Milzzellen)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	Mw	Gruppe
IgM-PFC	56	22	68	53	78	20	50	S 2
IgG-PFC	389	643	262	421	620	390	455	
IgM-PFC	53	128	28	67	124	104	84	S 3
IgG-PFC	1019	1687	442	2156	905	1666	1312	
IgM-PFC	217	58	214	198	331	221	223	S 4
IgG-PFC	3742	3333	3616	2677	2602	2360	3055	
IgM-PFC	44	82	51	56	66	79	63	S 5
IgG-PFC	1464	2830	652	547	2020	3961	1912	
IgM-PFC	54	32	43	31	19	11	32	S 6
IgG-PFC	1785	430	955	1230	396	640	840	
IgM-PFC	15	1	10	24	69	18	21	S 8
IgG-PFC	2752	44	852	1941	1012	284	1147	
IgM-PFC	10	11	28	3	5	7	11	S 10
IgG-PFC	1958	723	1111	321	444	567	854	

Einzelwerte der Untersuchungen zu Abschnitt 2 A c, aus denen die in Tabelle 1 angegebenen Mittelwerte berechnet wurden.
(IgM- bzw. IgG-PFC pro 10^6 Milzzellen)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	Mw	Gruppe
IgM-PFC	207	57	40	123	98	115	105	A 3
IgG-PFC	1095	594	395	1950	903	997	989	
IgM-PFC	53	128	28	67	124	104	84	KA 3
IgG-PFC	1019	1687	442	2156	905	1666	1312	
IgM-PFC	185	83	26	186	103	463	174	KEoA 3
IgG-PFC	2560	1423	486	1824	953	1103	1391	
IgM-PFC	36	60	185	92	135	67	95	A 5
IgG-PFC	250	289	346	265	275	381	301	
IgM-PFC	44	82	51	56	66	79	63	KA 5
IgG-PFC	1464	2830	652	547	2020	3961	1912	
IgM-PFC	144	62	136	306	86	101	139	KEoA 5
IgG-PFC	857	411	626	3033	1328	845	1183	

Statistische Berechnung

a) der IgM-PFC

	KA 3	KEoA 3
A 3	37	42
KA 3	-	45

	KA 5	KEoA 5
A 5	32,50	46
KA 5	-	54

b) der IgG-PFC

	KA 3	KEoA 3
A 3	45	46
KA 3	-	41

	KA 5	KEoA 5
A 5	57	57
KA 5	-	33

Einzelwerte der Untersuchungen zu Abschnitt 2 B c, aus denen die in Tabelle 2 angegebenen Mittelwerte berechnet wurden. (IgM- bzw. IgG-PFC pro 10^6 Milzzellen)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	Mw	Gruppe
IgM-PFC	4	4	2	2	3	2	3	B 3
IgG-PFC	8	9	1	3	2	10	5	
IgM-PFC	78	107	110	62	112	96	94	KB 3
IgG-PFC	561	586	910	914	1014	296	713	
IgM-PFC	52	150	34	49	21	47	58	KEoB 3
IgG-PFC	362	1460	188	774	237	649	611	
IgM-PFC	71	14	42	50	44	48	44	B 5
IgG-PFC	154	30	153	151	169	78	122	
IgM-PFC	949	940	497	622	776	544	721	KB 5
IgG-PFC	20661	31624	9459	11938	8316	15502	16250	
IgM-PFC	333	400	331	786	861	402	518	KEoB 5
IgG-PFC	11154	12149	5722	19723	12566	16041	12892	

Statistische Berechnung

a) der IgM-PFC

	KB 3	KEoB 3
B 3	57	57
KB 3	-	27

	KB 5	KEoB 5
B 5	57	57
KB 5	-	29

b) der IgG-PFC

	KB 3	KEoB 3
B 3	57	57
KB 3	-	34

	KB 5	KEoB 5
B 5	57	57
KB 5	-	37

Lebenslauf

Ich wurde am 14. 10. 1941 in Wuppertal-Elberfeld als Sohn des Lehrers Helmut Ernst Köberer und seiner Ehefrau Margarete, geb. Boschulte, geboren. Meine Kindheit verlebte ich in Wuppertal und Weißenberg/Oberwesterwaldkreis.

Im September 1947 wurde ich in die Volksschule Weißenberg aufgenommen, im Mai 1949 erfolgte ein durch Versetzung meines Vaters bedingter Wechsel an die Volksschule Selters/Westerwald.

Ab Ostern 1951 besuchte ich für ein Jahr die Sexta des Kaiser-Wilhelm-Gymnasiums Montabaur, ab Ostern 1952 bot sich durch wesentlich bessere Zugverbindungen der Besuch des Progymnasiums Dierdorf, der späteren Martin-Butzer-Schule, an, wo ich am 26. Februar 1960 das Abitur bestand.

Von Anfang April 1960 bis Ende Dezember 1961 leistete ich in Wetzlar, Hannover und Munster meinen Wehrdienst ab.

Am 1. Oktober 1961 wurde ich zum Leutnant befördert.

Im Mai 1962 begann ich am Auslands- und Dolmetscherinstitut der Universität Mainz in Germersheim das Studium der französischen und spanischen Sprache und legte im November 1963 die Diplom-Vorprüfung ab.

Mein Studium erfuhr eine zweimalige einjährige Unterbrechung: 1964 - 1965 erkrankte ich an Lungen-Tbc, die im Sanatorium St. Blasien und der Robert-Koch-Klinik in Freiburg/Br. operativ ausgeheilt wurde.

1966 - 1967 hielt ich mich zu Studienzwecken in Frankreich auf und übte am Lycée de Garçons in Arras eine Tätigkeit als Assistant de Langue Allemande aus.

Nach meiner Rückkehr bestand ich im April 1969 die Diplom-Hauptprüfung für Übersetzer in den Sprachen Französisch und Spanisch.

Von Juni 1969 bis März 1970 war ich als Diplom-Übersetzer für die Fa. Messerschmitt-Bölkow-Blohm in Koblenz und München tätig. Bis zu meiner Zulassung zum Studium der Zahnmedizin im Oktober des gleichen Jahres arbeitete ich als Exportkaufmann für die Fa. Günter Müller, Goddert.

Nach Aufnahme des Studiums bestand ich im September 1971 das Vorphysikum, im April 1973 das Physikum und erhielt im November 1975 nach bestandenem Staatsexamen meine Bestallung als Zahnarzt.

Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. E. M. Lemmel, danke ich für das Thema dieser Arbeit und für die Anleitung bei ihrer Durchführung.

Herrn Dr. U. Botzenhardt danke ich für zahlreiche Diskussionen, Anregungen und Ratschläge.

Mein Dank gilt insbesondere auch dem Leiter des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, Herrn Prof. Dr. P. Klein, für die Einrichtung eines Arbeitsplatzes und die Überlassung der Versuchstiere.

